Über den

Nachweis des Asparagins

und sein

Verhalten im Tierkörper.

INAUGURAL-DISSERTATION

WELCHE

ZUR ERLANGUNG DER DOCTORWÜRDE

IN DER

MEDICIN UND CHIRURGIE

MIT ZUSTIMMUNG

DER MEDICINISCHEN FACULTÄT

DER

FRIEDRICH-WILHELMS-UNIVERSITÄT ZU BERLIN

am 15. August 1893

NEBST DEN ANGEFÜGTEN THESEN

ÖFFENTLICH VERTHEIDIGEN WIRD

DER VERFASSER

Julius C. Lewinsky

aus New-York.

OPPONENTEN:

Hr. Dr. phil. Martin Krüger.
- Dr. med. Fritz Sachs, prakt. Arzt.
- Dr. med. Albert Fleck, prakt. Arzt.

BERLIN.

Buchdruckerei von Gustav Schade (Otto Francke).

Linienstrasse 158.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41535707_0175

Seinen teuren Eltern

in Liebe und Dankbarkeit

gewidmet

vom

Verfasser.

Der Dignität der Eiweisskörper als Nährstoff für den Organismus entsprechend, hat ihr Schicksal sowohl im Magen-Darmtractus, als auch besonders auf den noch mehr verborgenen Wegen jenseits der Darmwand durch die Gewebe des Körpers stets das Interesse der Physiologen und Chemiker in Anspruch genommen.

Als Ergebnis der zahlreichen Forschungen wissen wir, dass bei der Verdauung der Proteïnsubstanzen durch die proteolytischen Enzyme des Magen-Pancreassecretes der Quellung die Lösung, die Spaltung in Albumosen, die Peptonisierung und schliesslich nach der Resorption in der Darmwand zum grössten Teil die Regeneration in circulierendes Eiweiss der Reihe nach folgen.

Die Schicksale aber der jenseits der Darmwand in den Säftestrom gelangten Eiweisskörper sind noch sehr dunkel.

Nachdem Radziewski das Leucin in den meisten Organen nachgewiesen, lag die Vermutung nahe, dass auch im lebenden Körper die Eiweisskörper bei ihrer Spaltung Amidosäuren liefern. Entzog sich nun das Eiweiss auf jenen verborgenen Wegen der directen Verfolgung, so hoffte man doch gewisse Gesichtspunkte in Bezug auf seine Schicksale in den Körpersäften durch die Verfütterung seiner Spaltungsproducte zu gewinnen.

In zahlreichen Arbeiten ausgezeichneter Forscher sind die Amidosäuren und unter ihnen das Asparagin, das Monamid der Amidobernsteinsäure, auf seinen Nährwert oder auf sein Verhalten im Tierkörper eingehend geprüft worden.

Die Frage nach dem Nährwert ergiebt sich aus dem reichlichen Vorkommen des Asparagins im Pflanzenreich; ganz besonders reichlich bei der Keimung von Samen angetroffen, findet sich das Asparagin in gelöster Form im Zellsaft von Asparagus officinalis, radix Althaeae,

in den Leguminosen (Erbsen, Bohnen, Linsen, Wicken, Glycyrrhiza, noch reichlicher in der Kartoffel, Runkelrübe, im Hafer und in den Keimlingen der Papilionaceen procentisch in grösster Menge).

In destilliertem Wasser gezogene Lupinen enthalten gegen 25 % und Keimlinge von gelben Lupinen, die erst 10 Tage im Dunkeln und darauf mehrere Wochen bei beschränktem Luftzutritt vegetiert haben, bis 30 % der Trockensubstanz an Asparagin[1]).

Die Keimlinge enthalten in allen Fällen mehr Asparagin als die entwickelte Pflanze[2]); es ist, wie zahlreiche Untersuchungen festgestellt haben, aus den Proteïnstoffen durch einen Oxydationsprocess bei der Keimung entstanden, um beim späteren Wachstum der Pflanze wieder in die Proteïnstoffe überzugehen.

Diese Asparaginbildung, ein metaplastischer, activer Vorgang im Zellleibe, findet ihr Analogon in der Peptonisierung der Eiweisskörper im Tierorganismus.

Wie diese, so macht auch jene Umbildung bei der Pflanze aus den nicht oder schwer diffusiblen leicht durch die Pflanzenzellmembran diffundierbare Eiweissstoffe zum Zwecke der gleichmässigen Verteilung des Baumaterials an alle im Wachsen begriffene Zellen, dem jeweiligen Bedürfnisse entsprechend.

Das Asparagin und sein Nährwert wurden untersucht von Weiske, Zuntz, Potthast, v. Knieriem etc.

Weiske[3]) fütterte Schafe, Gänse und Ziegen und bewies, dass das Asparagin „eiweisssparend" wirke, indem durch seine Zersetzung die der Eiweisskörper herabgemindert wird.

Die Weiske'schen Resultate wurden von Zuntz[4]) und Potthast[5]) auch beim Kaninchen bestätigt und v. Knieriem schliesslich erkannte auch beim Hunde die „eiweisssparende" Wirkung des Asparagins.

Die Versuche von J. Munk[6]) aber zeigten keine Abnahme der Stickstoffausfuhr nach Verfütterung des

---

[1]) Schulze, Umlauft, Jhrbert. d. Agricult.-Chemie, 1875, S. 144.
[2]) Palladin, Bericht der deutsch. Bot. Ges., VI, S. 205, 296.
[3]) Zeitschrift für Biologie, XV, S. 417.
[4]) Arch. für Anatomie und Physiologie, 1882, S. 424.
[5]) Pflüger's Arch., 32, S. 280.
[6]) Virchow's Archiv, 94, S. 436.

Asparagins; vielmehr fand er selbst bei reicher Zugabe von Kohlehydraten zur Nahrung eine geringe 4,7 % Steigerung der N-Ausscheidung, die sicher durch vermehrten Zerfall von Eiweiss bedingt war, wie die gleichzeitige Vermehrung der Gesamtschwefelsäureausscheidung (7 %) beweist.

Voit[7]) und Politis[8]) zeigten, dass auch bei Ratten dem Asparagin keine Bedeutung als Nährstoff zukommt.

Diese entgegengesetzten Resultate dürften wohl nur in der Verschiedenheit der Ausnutzung des eingeführten Asparagins von Pflanzen- und Fleischfressern ihre Erklärung finden.

In den Pflanzen scheint neben dem Asparagin noch Glutaminsäure in grosser Menge vorzukommen; im Tierkörper dagegen sind Säureamide bisher nicht, wohl aber eine Reihe von Amidosäuren viz. Leucin, Tyrosin, Asparaginsäure, Glutaminsäure und Glycocoll gefunden. Dies letztere jedoch nicht in freiem Zustande, sondern gepaart mit Cholalsäure und Benzoësäure.

Wir wissen jedoch, dass die nächsten Abkömmlinge des Eiweisses, die leimgebenden Substanzen, bei ihrer Zersetzung sowohl durch Fermente als auch durch Säuren (H_2SO_4) und Alkalien reichlich Leimsüss liefern. Das Glycin, welches sich mit der Benzoësäure zur Bildung von Hippursäure vereinigt, stammt zweifellos aus der Zersetzung der Eiweisskörper in den Geweben.

Die im Tierorganismus gefundenen Amidosäuren müssen, soweit sie nicht in den Körper als solche eingeführt wurden, als Spaltungsproducte des Nahrungseiweisses angesehen werden, entstanden durch Bauchspeichelwirkung und Darmfäulnis.

Kühne[9]) hat bei seinem doppelten Unterbindungsversuch am lebenden Hunde nach Einführung von Fibrin in das gereinigte Schaltstück nach 4 Stunden Pepton, Leucin und Tyrosin gefunden.

Bunge[10]) jedoch bezweifelt aus teleologischen Gründen die irgendwie erhebliche Amidosäurebildung im Darm.

---

[7]) Medic. Centralblatt, 1884, S. 378.

[8]) Zeitschrift für Biologie, N. F., X, S. 492.

[9]) Verhandlg. d. naturhist. medic. Vereins, Heidelberg 1876, N.F., Bd. I, S. 3.

[10]) Lehrbuch d. Phyiol. und Pathol. Chemie, 1889.

Es wäre eine Verschwendung der chemischen Spannkräfte, welche bei der verfrühten Spaltung zwecklos in lebendige Kraft sich umsetzte.

Schmidt-Mühlheim fand nur Spuren oder gar keine Amidosäuren im Darm.

Wir wissen nun, dass die bei weitem grösste Menge des Stickstoffgehaltes der Nahrung den Körper als Harnstoff verlässt, während Harnsäure, Kreatin, Kreatinin, Hippursäure und Ammoniaksalze den Stickstoff nur in geringer Menge binden.

Das Verhältnis von C : N in den Eiweisskörpern ist wie $3^1/_2 : 1$, während im Harnstoff C : N sich verhält wie 1 : 2; die Umwandlung der Eiweisskörper in Harnstoff charakterisiert sich also durch eine starke Verminderung des C im Vergleich zu N.

Da die Oxydation von Eiweiss zu Harnstoff im Organismus unter Bildung von Zwischenproducten erfolgen muss, so darf man erwarten, unter letzteren auch solche zu finden, bei denen das Verhältnis von C : N zwischen dem des Eiweisses und des Harnstoffes liegt. Derartige Zwischenproducte sind in der That im Glycocoll, Harnsäure, Kreatin aufgefunden worden.

Von diesen können Kreatinin (Kreatin) und Harnsäure im Harn unverändert erscheinen, während Glycocoll als solches im Harn nicht gefunden ist. Es müssen daher die Amidosäuren wie Glycocoll den Organismus in veränderter Form verlassen und zwar, wie Schulze und Nencki zuerst vermutet haben, in Form von Harnstoff. Sie sind nach Ansicht vieler Autoren als Vorstufen des Harnstoffs anzusehen; es ist aber noch unsicher, ob sie bei der Umwandlung der Eiweisskörper in Harnstoff im Tierkörper überhaupt in grösserer Menge auftreten, demnach auch normal als Vorstufen des Harnstoffs anzusehen sind. Für den genetischen Zusammenhang jedoch zwischen Amidosäuren und Harnstoff spricht zunächst die reichliche Abscheidung von Glycocoll in Form von Hippursäure, wie sie nach Verfütterung von Benzoësäure, sowie allen durch Oxydation in Benzoësäure übergehenden Körpern wie Toluol, Äthylbenzol, Benzylalkohol etc. statt hat.

Glycocoll ist in diesen Fällen durch Paarung mit der Benzoësäure vor der weiteren Oxydation geschützt worden.

Unter pathologischen Verhältnissen sind die Gewebselemente z. B. der Leber bei acuter gelber Leberatrophie, bei Phosphorvergiftung und bei Lebercirrhose durch fettige Degeneration oder durch Schwund in der Ausübung ihrer oxydierenden Function geschwächt oder ganz behindert; es treten dann im Harn bei Harnstoffverminderung oder seinem Schwunde dessen Vorstufen Leucin und Tyrosin auf.

Sicherlich eine Thatsache, die nicht nur eine wertvolle Bestätigung der Lehre von der Harnstoffbildung in der Leber, sondern auch geeignet erscheint, die Vermutung des Zusammenhanges zwischen den Amidosäuren und dem Harnstoff zu rechtfertigen.

Bewiesen haben diesen Zusammenhang O. Schulze[11]) und M. Nencki[12]) durch eine grundlegende Arbeit, in der sie zeigten, dass Leucin und Glycocoll Hunden verfüttert, im Harn als Harnstoff wiedererscheinen.

Sie sprachen zugleich die Ansicht aus, dass die Amidosäuren sich im Tierkörper in grösserer Menge bilden, als nach dem Vorkommen derselben und dem Gehalte der Organe an ihnen vermutet werden könnte. Die Amidosäuren sind also die Vorstufen des Harnstoffs; sie finden sich nur deshalb in der Zeiteinheit in so geringer Menge in den Organen, weil nur wenig von ihnen auf einmal gebildet und die gebildeten Amidosäuren sofort wieder zu Harnstoff oxydiert werden.

Salkowski[13]) bestätigte die obigen Angaben und lehrte als Harnstoffbildner noch das Sarcosin und Alanin kennen[14]).

v. Knieriem hat den Übergang von Asparagin und Asparaginsäure in Harnstoff nachgewiesen.

In welcher Weise jedoch die Amidosäuren und Säureamide im Organismus verändert werden, welche Zwischenproducte sie wiederum liefern müssen, ehe sie als Harnstoff zur Ausscheidung gelangen, und schliesslich in welchen Organen sie zersetzt werden — darüber haben die bisherigen Untersuchungen nichts ergeben.

---

[11]) Zeitschrift für Biologie, S. 824.
[12]) Bericht der Deutsch. Chem. Ges., 1869, S. 566.
[13]) Zeitschrift für Physiol. Chemie, 1879, IV, S. 100.
[14]) Zeitschrift für Biologie, X, S. 288.

Es muss fraglich erscheinen, ob die Frage nach der Art der Umwandlungsproducte der Amidosäuren durch Stoffwechselversuche wird entschieden werden können; ist man ja doch auch auf die Bedeutung der Amidosäuren als Zwischenproduct bei der Umwandlung der Eiweisskörper in Harnstoff nur durch die vielseitigen Beziehungen derselben zum Eiweiss aufmerksam geworden und nicht etwa durch Fütterungsversuche mit Eiweiss selbst; denn normal, d. h. eben nach Eingabe selbst grosser Mengen von Eiweiss finden sich nur Spuren von Amidosäuren in den Organen.

Die Erklärung für diese auffallende Erscheinung haben schon Schulze und Nencki gegeben; sie besteht darin, dass nur die Anfangs- und Endproducte des Stoffwechsels beständig sind und in grösserer Menge auftreten können, während die Zwischenproducte sich stets nur in kleiner Menge bilden und durch die oxydierende Kraft des Organismus schnell weiter zerstört werden.

Von diesem Gesichtspunkte aus scheint die Beantwortung der Frage nach den nächsten Umwandlungsproducten der Amidosäuren wenig aussichtsvoll zu sein, da man, wenn überhaupt, nur geringe Mengen der Spaltungsproducte der verfütterten Amidosäuren in den einzelnen Organen erwarten darf; wohl aber darf man hoffen, über die Art der Umwandlung der Amidosäuren in Harnstoff oder wenigstens über den Ort der beginnenden Zersetzung Aufschluss zu erhalten, wenn man nach Verfütterung grosser Mengen von Amidosäuren die einzelnen Organe und das Blut auf etwa noch vorhandene unzersetzte Amidosäuren untersucht. — Zur Verfütterung schien das Asparagin am geeignetsten, da es bisher wohl im Pflanzenreich, nicht aber im Tierreich gefunden, als völlig reines Präparat käuflich und in Wasser leicht löslich ist.

Schliesslich liessen die zahlreichen über Asparagin veröffentlichten Arbeiten, von denen ein grosser Teil sich speciell mit der quantitativen Bestimmung und der Isolierung des Asparagins beschäftigen, es wünschenswert erscheinen, Versuche mit diesem Körper auszuführen. Ich habe daher auf Veranlassung des Herrn Professor Dr. Kossel im Königl. Physiol. Institut zu Berlin Fütterungsversuche mit Asparagin an Hunden ausgeführt.

Es sei mir gestattet, gleich hier meinem verehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. Kossel, ebenso wie dem I. Assistenten Herrn Dr. Martin Krüger für das der Arbeit geschenkte Interesse Dank zu sagen.

Ehe jedoch mit den Fütterungsversuchen begonnen werden konnte, musste eine Reihe von Vorversuchen gemacht werden; einmal handelt es sich darum, die für den Nachweis und die Bestimmung des Asparagins angegebenen Methoden auf ihre Anwendbarkeit auf tierische Organe zu prüfen, dann aber ein Verfahren zu finden, die Organe für den Nachweis des Asparagins in geeigneter Weise vorzubereiten. Die hier in Betracht kommenden Methoden werden im wesentlichen mit den für die Enteiweissung des Blutes zusammenfallen.

Methoden zum Nachweis des Asparagins.

Für die quantitative Bestimmung des Asparagins sind bisher folgende Methoden angegeben, welche sich auf das Verhalten des Asparagins gründen, beim Kochen mit verdünnten Säuren und Alkalien Ammoniak abzuspalten und in Asparaginsäure überzugehen.

Der hierbei stattfindende chemische Vorgang vollzieht sich nach folgender Gleichung:

$$\begin{array}{l} CH\,(NH_2) - COOH \\ | \\ CH_2\ CO\ (NH_2) \end{array} + H_2O + HCl =$$

$$\begin{array}{l} CH\,NH_2\,COOH \\ | \\ CH_2 \qquad COOH \end{array} + NH_4\,Cl.$$

Es wird demnach eine Amidogruppe in Form von Ammoniak abgespalten, während die zweite unverändert bleibt, da sie eine grössere Resistenz gegen die einwirkenden Reagentien zeigt; sie wird erst beim Kochen mit concentrierter Schwefelsäure ($H_2\,SO_4$), also nach der Kjeldahl'schen Methode zur Stickstoffbestimmung, gleichfalls in Form von Ammoniak abgespalten.

Nach der ersten von Sachsse[15]) angegebenen Methode kocht man die Asparagin enthaltende Lösung, die auf 100 ccm Wasser 50—300 mgr Asparagin enthalten darf, mit 10 ccm concentrierter Salzsäure eine Stunde lang am Rückflusskühler und bestimmt den gebildeten Salmiak volumetrisch im Azotometer; man muss sich jedoch vorher überzeugen, ob und wie viel Gas dieselbe Lösung vor dem Kochen mit Salzsäure, mit Natriumhypobromid entwickelt. Nach der zweiten von E. Schulze[16]) herrührenden Methode wird das Asparagin zunächst in derselben Weise mit $7^1/_2$—10 Vol.-% conc. Salzsäure 2 Stunden lang erhitzt; dann wird jedoch das Ammoniumchlorid durch Magnesia zersetzt und das frei gewordene Ammoniak titrimetrisch bestimmt.

Während nach diesen beiden Methoden der Stickstoff des abgespaltenen Ammoniak bestimmt wird, hat Sachsse ein zweites Verfahren angegeben, nämlich den Stickstoffgehalt der entstandenen Asparaginsäure zu bestimmen.

Zu diesem Zwecke wird, wie oben, das Asparagin durch Kochen mit conc. Salzsäure zersetzt, die Lösung zur Trockne verdampft, der Rückstand mit Strontiumcarbonat in wässriger Lösung digeriert. Aus dem Filtrat fällt man durch Zusatz von Kupferacetat die Asparaginsäure aus.

Der nach 24 stündigem Stehen in der Kälte entstandene Niederschlag wird filtriert, durch salpetrige Säure (rauchende $HNO_3 + H_2O$) zersetzt und der frei werdende Stickstoff gemessen. Die angeführten Methoden setzen voraus, dass die Spaltung von Asparagin unter der Einwirkung von Säuren und Alkalien quantitativ, in dem Sinne, wie die obige Formel angiebt, verläuft — eine Voraussetzung, die durch zahlreiche Versuche von B. Schulze[17]) und E. Schulze[18]) bestätigt worden ist.

B. Schulze[19]) fand, dass durch mehrstündiges Kochen (3—14 Stunden) mit Kalkmilch oder schneller mit Ätzbaryt (1 Stunde) genau 50% des Gesamtstickstoffs in

[15]) Journal für pract. Chemie, 6, S. 118.
[16]) Journal für pract. Chemie, 31, S. 245.
[17]) Landwirtschaftl. Versuchsstation, 29, S. 233.
[18]) Journal für pract. Chemie, 31, S. 233.
[19]) Landwirtschaftl. Jahresbericht, 30, S. 459.

Ammoniak umgewandelt werden; d. h. die Umsetzung des Asparagins in Ammoniak + Asparaginsäure verläuft quantitativ.

Längeres Kochen mit den genannten Reagentien, namentlich mit Ätzbaryt, soll jedoch einen Teil der Asparaginsäure in Äpfelsäure verwandeln.

Letztere Angabe wurde von E. Schulze widerlegt, der die Beständigkeit reiner Amidosäuren beim Erhitzen mit verdünnter Kalilauge oder conc. Barytwasser zeigte.

Eine Abspaltung von Ammoniak aus den Amidosäuren findet nur statt, wenn die Concentration der Kalilauge sich der des schmelzenden Kalis näherte. Dieselbe Beständigkeit zeigt das Asparagin auch gegen Säuren.

E. Schulze liess auf Lösungen, welche 1 gr Asparagin in 50—60 ccm Wasser enthielten, 2—$2^1/_2$ ccm conc. Schwefelsäure oder 5—6 ccm conc. Salzsäure einwirken und variierte die Zeit von 2—8 Stunden; in allen Fällen wurde fast genau die Hälfte des Asparaginstickstoffs abgespalten. Es war demnach auch hier die Umwandlung quantitativ.

In welcher Weise die Ammoniumchlorid enthaltende Flüssigkeit weiter behandelt, ob Ammoniak mit Natronlauge oder mit Magnesia unter Anwendung des Bosshard'schen Apparates[20]) destilliert wurde, ob es in der Kälte nach der Schlösing'schen Methode bestimmt wurde, war für das Resultat gleichgültig.

Dagegen empfiehlt E. Schulze[21]) die Bestimmung des Ammoniak nach der volumetrischen Methode nicht, weil die hierbei zur Verwendung kommende Bromlauge auf reine Amidosäuren zwar nur minimal, bei Gegenwart von Ammonsalzen, wie im vorliegenden Falle, jedoch erheblich stärker einwirkt. Auf Grund dieser Erfahrung wurde von vorneherein von der quantitativen Bestimmung des Asparagins nach der Sachsse'schen Methode Abstand genommen und die Schulze'sche bevorzugt.

Nach der Ansicht des letzteren Forschers dürfte es genügen, zur Zersetzung des Asparagins $7^1/_2$—10 Vol.-% conc. Salzsäure oder 2—$2^1/_2$ Vol.-% conc. Schwefelsäure zu wählen.

---

[20]) Zeitschrift für Analyt. Chemie, 22, S. 330.
[21]) Zeitschrift für Analyt. Chemie, 21, S. 1.

Versuche mit concentrierteren Säuren wurden bisher nicht angestellt; ob in der Voraussetzung, dass selbst reine Amidosäuren durch solche angegriffen würden, oder in der Vermutung, dass vielleicht bei der Bestimmung des Asparagins in Pflanzenextracten, für welche die Methode ursprünglich ausgearbeitet war, neben dem zu bestimmenden Säureamid noch Stoffe vorhanden sein könnten, die die Resistenz der Amidosäuren gegen Mineralsäuren herabsetzen, mag dahingestellt sein. Jedenfalls schien es wünschenswert, die von B. Schulze und auch von E. Schulze angestellten Versuche in dieser Richtung zu ergänzen.

Dass in der That die Amidosäuren noch gegen bedeutend stärkere als die bisher angewendeten beständig sind, kann man aus den Spaltungsversuchen schliessen, welche an Harnsäure[22]) und den Nucleïnbasen[23])[24]), zweifellos auch Vorstufen des Harnstoffs oder der Harnsäure, vorgenommen sind.

Nach Einwirkung conc. Jodwasserstoffsäure auf Harnsäure bei 160—170°, selbst bei 6—12stündiger Einwirkung concentrierter Salzsäure bei 240—250° auf Coffeïn oder Theobromin kann unter den Spaltungsproducten noch Glycocoll resp. Sarkosin nachgewiesen werden[25]).

Die dann weiter beim Guanin und dem Adenin angestellten Versuche liefern den Beweis, dass die erhaltenen Mengen von Glycocoll mit der theoretischen Menge übereinstimmen[26]).

Versuche über die Einwirkung von Säuren und Alkalien auf Asparagin.

Um die Einwirkung von Säuren stärkerer Concentration auf Asparagin zu zeigen, wurden die folgenden Versuche ausgeführt.

Ungefähr 0,5 gr Asparagin wurden mit je 10 ccm conc. Salzsäure und Schwefelsäure, die mit 100, resp. 50,

---

[22]) Strecker, Anal. der Chemie und Pharmacie, 146, S. 142.
[23]) E. Schmidt, ebenda, 217, S. 270.
[24]) E. Schmidt und H. Preseler, ibid., 217, S. 287.
[25]) C. Wulff, Zeitschrift für Physiol. Chemie.
[26]) Martin Krüger, Zeitschrift für Physiol. Chemie.

resp. 20 ccm Wasser verdünnt waren, 1 oder 2 Stunden am Rückflusskühler erwärmt. Nach der Zersetzung wurde die Lösung auf etwa 250 ccm mit Wasser verdünnt und nach Zusatz von 33 %iger Natronlauge im hinreichenden Überschuss das frei gewordene Ammoniak überdestilliert; dasselbe wurde in $^1/_{10}$ Normaloxalsäure aufgefangen und deren Überschuss mit $^1/_{10}$ Normalnatronlauge unter Anwendung von Rosolsäure als Indicator zurücktitriert.

Bei den letzten Versuchen, welche das Verhalten des Asparagins gegen stärkere Natronlauge zeigen sollen, wurde die angewendete Menge Substanz mit der angegebenen Menge Natronlauge oder Natronlauge + H_2O übergossen und das beim Erwärmen der Lösung allmählich entstehende Ammoniak direct in vorgelegte $^1/_{10}$ Normaloxalsäure destilliert. Es zeigte sich, dass bei beiden Versuchen nach $^1/_2$stündiger Einwirkung der heissen Lauge die übergehenden Tropfen des Destillates auf ein empfindliches Lackmus nicht mehr reagierten.

Die Versuche sind in folgender Tabelle zusammengestellt.

Tabelle 1.

Stab I	II	III	IV	V	VI
Asparagin in gr	Conc. H_2SO_4	H_2O in ccm	Dauer der Erhitzung Stunden	$^1/_{10}$ Normal-Oxalsäure in ccm	Stickstoff gefunden in Proc.
0,4715	10	50	1	31,05	9,22
0,5015	10	50	2	32,85	9,17
0,5015	10	20	1	32,95	9,20
0,5015	10	20	2	33,10	9,24
0,5000	10	90	1	32,75	9,16
0,4985	10	90	2	32,90	9,24
	Conc. H Cl				
0,500	10	90	1	32,85	9,20
0,500	10	90	2	32,60	9,13
0,500	10	50	1	32,90	9,22
0,500	10	50	2	32,90	9,22
0,500	10	20	1	32,75	9,17
0,501	10	20	2	33,00	9,22
	33 proc. (conc.) Natronlauge				
0,5015	100	100	$^1/_2$	33,15	9,25
0,5000	200	—	$^1/_2$	33,15	9,25

Stab I enthält die angewandte Menge Asparagin,
- II enthält die angewendete Menge Säure,
- III enthält die zugesetzte Menge Wasser in ccm,
- IV giebt die Zeit des Erwärmens an,
- V giebt die verbrauchte Menge $^1/_{10}$ Normal-oxalsäure,
- VI giebt die gefundene Menge Stickstoff in %.

Verlangt sind bei Asparagin 9,33 % Stickstoff.

Die für den Stickstoff beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure erhaltenen Zahlen liegen innerhalb der Grenzen 9,16 –9,24; im Mittel wurde gefunden 9,20 % Stickstoff.

Beim Kochen mit Salzsäure wurde gefunden 9,13 bis 9,22; im Mittel also 9,19 % N.

Diese Werte stimmen mit den berechneten innerhalb der Fehlergrenzen des Versuchs überein. Da sogar in allen Fällen ein geringeres Maass an Stickstoff gefunden wurde, so zeigen die Versuche zweifellos, dass das Asparagin durch bedeutend stärkere Säuren, als sie von Schulze angewendet wurden, nur bis zur Asparaginsäure umgewandelt wird, dass dagegen die Asparaginsäure selbst nicht angegriffen wird.

Der Unterschied im Säuregehalt der von Schulze gebrauchten und der obigen Zersetzungsflüssigkeiten erhellt aus folgenden Zahlen.

Von Schulze gebraucht:

$7^1/_2$—10 Vol.-% conc. H Cl; 2—$2^1/_2$ Vol.-% conc. H_2SO_4.

Von mir gebraucht:

10—33,33 Vol.-% conc. H Cl; 10—33,33 Vol.-% conc. H_2SO_4.

Die stärksten von mir angewendeten Säuren sind 3,3—4,4 mal so stark als die Schulze'schen, die von mir gebrauchten Schwefelsäuren sind sogar 13,3—16,5 mal so stark.

Noch besser stimmen die beim Erhitzen mit Natronlauge erhaltenen Zahlen mit den theoretischen überein; es sind gefunden 9,25—9,31 %. Dieser Wert stimmt mit dem theoretischen 9,33 % fast überein.

Nach diesen Versuchen erreicht man durch 1 stündiges Kochen mit einer Säure von 20 Vol.-% conc. H Cl oder conc. H_2SO_4 völlige Zersetzung des Asparagins, ohne andererseits eine zu weitgehende Spaltung desselben befürchten zu müssen.

Das frei gewordene Ammoniak kann, wie schon Schulze angab, am bequemsten unter Zusatz von Natronlauge destilliert werden.

Die Schulze'sche Methode zur Bestimmung des Asparagins hat zur Voraussetzung, dass neben dem Asparagin kein weiteres Säureamid oder andere, durch kochende verdünnte Säuren unter Abspaltung von Ammoniak zersetzbare Körper vorhanden sind, da sonst die Menge des Asparagins zu hoch gefunden würde.

Die Methode ist also nur da anwendbar, wo man sich durch besondere Vorprüfung überzeugt hat, oder wo man erfahrungsgemäss weiss, dass nur Asparagin in der Lösung enthalten ist.

Sollten dennoch geringe Mengen anderer, Ammoniak liefernder Körper vorhanden sein, so würde die Methode doch noch einen erheblichen Wert beanspruchen dürfen, da sie alsdann angiebt, wieviel Asparagin in maximo vorhanden sein kann.

Für die vorliegenden Untersuchungen, bei denen nach Verfütterung von Asparagin die einzelnen Organe auf einen Gehalt an solchem geprüft werden sollen, genügte die Schulze'sche Methode nicht; es musste vielmehr ein Verfahren gefunden werden, das gestattet, das Asparagin in einer schwer löslichen, für Asparagin charakteristischen Verbindung aus den Untersuchungsflüssigkeiten abzuscheiden.

Eine solche Verbindung haben wir in dem Asparaginkupfer, welches in kaltem Wasser fast unlöslich ist und durch Versetzen wässeriger Asparaginlösung mit Kupferacetat erhalten werden kann.

Die empirische Formel der Verbindung ist

$$(C_4 H_7 N_2 O_3)_2 Cu.$$

Die Analyse des jeweilig erhaltenen Niederschlages, sowie die äussere Beschaffenheit desselben muss Aufschluss geben über seine Identität mit Asparaginkupfer, denn die Fällbarkeit mit Kupferacetat kommt nicht allein dem Asparagin zu, sondern mit ihm theilen diese Eigenschaft alle Amidosäuren. Eine Reihe von Versuchen wurde angestellt, um die Anwendbarkeit der angedeuteten Methode für den Nachweis und die Isolierung des Asparagins aus Organen zu prüfen. Ehe jedoch auf

dieselben eingegangen werden kann, müssen die Methoden, welche zur Enteiweissung der Organe benutzt werden, kurz besprochen werden.

Enteiweissungsmethoden.

Die Methoden, welche zur Enteiweissung der Organe angegeben sind, sind äusserst zahlreich; umfasst doch die Enteiweissung des Blutes zum Zwecke der Zuckerbestimmung eine ganze Litteratur (vergl. J. Seegen im Centralblatt für Physiologie 1892, Bd. VI, No. 17).

Es schien schwierig, aus den mannigfaltigen Methoden die für den gegebenen Fall passende auszuwählen.

Folgende Punkte waren zu berücksichtigen.

Erstens musste die Einwirkung vermieden werden von Reagentien, welche eine Zersetzung oder Ausfällung des Asparagins bewirken könnten; es durften daher weder starke Mineralsäuren noch starke Alkalien zur Anwendung kommen; ebenso musste bei der Coagulation der Alkohol, in dem das Asparagin unlöslich ist, wegfallen.

Zweitens mussten alle Methoden ausser Acht gelassen werden, bei welchen die Coagulation der Eiweisskörper durch Zusatz grösserer Mengen von Neutralsalzen befördert wird, um bei der Fällung der Asparaginkupferverbindung möglichst salzfreie Lösungen zu haben.

Drittens war es zweckmässig, für die Fällung der Eiweisskörper solche Reagentien zu wählen, deren Überschuss leicht wieder entfernt werden konnte.

Ein allen diesen Anforderungen genügendes Verfahren scheint die Coagulation der Eiweisskörper durch Essigsäure in der Wärme zu sein, die man darauf mit Natriumcarbonat abgestumpft hat.

Diese Methode der Fällung steht im Einklange mit dem allgemeinen Verhalten der Eiweisskörper, bei Gegenwart von Schwer- oder Alkalimetallen leichter zu coagulieren. Es bildet sich unter Zusatz von Soda zum Blut oder zu den Organextracten Natriumacetat.

Nach vielen vergeblichen Versuchen wurden schliess-

lich 50 ccm Blut mit der 3—4fachen Menge heissen Wassers versetzt und das Gemisch in einem mit siedendem Wasser gefüllten Bade unter Umrühren stehen gelassen (etwa 10 Minuten). Jetzt erst wurde Essigsäure tropfenweise zugesetzt, bis die Coagula der Eiweisskörper sich zu kleinen, nicht zusammenhängenden Flocken zusammenballten. In manchen Fällen konnte dieser Punkt jedoch erst nach Zusatz überschüssiger Essigsäure mit nachfolgender Abstumpfung derselben durch Natriumcarbonat so erreicht werden, dass das Filtrat klar und transparent war. Im Princip ist diese Methode von mir schon angewendet worden, ehe J. Seegen dieselbe unter Angabe bestimmter Mengenverhältnisse von Essigsäure und Soda veröffentlichte[27]).

Des weiteren wurde bei diesen Enteiweissungsversuchen das Coagulum durch Coliertücher entfernt. Das Filtrat war in allen Fällen wasserklar.

Das Coagulum wurde mit der Hand stark ausgepresst, noch zweimal mit je 200 ccm heissen Wassers angerührt, coliert und tüchtig ausgepresst.

Das klare Filtrat wurde nach Vereinigung mit dem Waschwasser etwas getrübt, doch zog ich es vor, nicht erst durch Filtration mit Fliesspapier zu klären, sondern die Reagentien zur Entfernung der letzten Spuren von Eiweisskörpern der Flüssigkeit direct zuzusetzen.

Von solchen Reagentien wurden geprüft:

Gerbsäure, Salzsäure, Kaliumquecksilberjodid, Kaliumbichromat und schliesslich Schwefelsäure + Phosphorwolframsäure.

Gerbsäure wurde nur bei einigen, Kaliumbichromat nur bei einem Versuche gebraucht.

Es zeigte sich nämlich, dass beim Eindampfen das Filtrat nach deren Anwendung sich mit einem Häutchen bedeckte, das nach der Entfernung durch Filtration sich immer wieder erneuerte.

Es wurde daher vornehmlich Salzsäure und Kaliumquecksilberjodid und auch Schwefelsäure + Phosphorwolframsäure gebraucht, die beide Filtrate liefern, in denen sich das Asparagin gut nachweisen lässt.

Die untersuchten Organe wurden nach derselben

[27]) Centralblatt für Physiologie, 1892, Bd. VI, No. 20.

Methode enteiweisst, nachdem Extracte aus den zerkleinerten Organen hergestellt worden waren.

Handelt es sich um die Bestimmung des Asparagins nach der Schulze'schen Methode, so kann das Filtrat von dem durch Kaliumquecksilberjodid erzeugten Niederschlage direct bis auf 50 ccm eingedampft werden und mit der zur Zersetzung des Asparagins erforderlichen Menge Säure versetzt werden.

Soll dagegen das Asparagin mit Kupferacetat gefällt werden, so würde Schwefelsäure + Phosphorwolframsäure vorzuziehen sein, weil alsdann durch Zusatz von Baryt zum Filtrat und nachheriges Einleiten von Kohlensäure der Überschuss an den zugesetzten Säuren wie der an Baryt herausgeschafft werden kann und so eine fast salzfreie, völlig neutrale Lösung resultiert, aus der das Asparagin und die Asparaginsäure direct mit Kupferacetat gefällt werden können.

Bestimmung des Asparagins und der Asparaginsäure als Kupferverbindung.

Nachdem im Vorhergehenden das Verfahren angegeben worden ist, Blut und Organe in einer für den Nachweis von Asparagin als Kupferverbindung geeigneten Weise vorzubereiten, müssen wir noch den Nachweis erbringen, dass bei allen zur Enteiweissung erforderlichen Manipulationen das Asparagin unverändert bleibt.

Zu diesem Zwecke sind die folgenden Versuche gemacht worden; deren Anordnung ist nach dem Gesagten leicht verständlich.

Asparagin wurde in 100 ccm Wasser gelöst, auf Zusatz von wenig Essigsäure 10 Minuten lang auf dem Wasserbad erwärmt; nach dem Erkalten wurde etwa so viel Schwefelsäure + Phosphorwolframsäure hinzugefügt, als zur Entfernung der letzten Spuren von Eiweiss aus 50 ccm Blut gewöhnlich verbraucht wurde; der Überschuss wurde, wie bei den Blut- und den Organversuchen, durch Zusatz von Baryt bis zur schwach alkalischen Reaction, und der Überschuss des Baryt durch Einleiten von Kohlensäure entfernt; nach dem Filtrieren wurde die Flüssigkeit längere Zeit zur Zersetzung des in Lösung

gegangenen Bariumcarbonat gekocht; dieses auf ein geringes Volumen (20 ccm) eingedampfte Filtrat wurde mit kalt gesättigter Kupferacetatlösung versetzt und der nach 24stündigem Stehen entstandene Niederschlag auf getrocknetem und gewogenem Filter gesammelt, mit kaltem Wasser gewaschen, schliesslich bis 100° erhitzt bis zum constanten Gewicht und zuletzt gewogen.

Um die Reinheit des erhaltenen Asparaginkupfers zu beweisen, genügt es vollständig, den Gehalt an Kupfer und den beim Kochen mit verdünnten Säuren erhaltenen Stickstoff, welcher in Folgendem stets als Partialstickstoff bezeichnet werden soll, zu bestimmen; doch wurde in allen Fällen auch der Gesamtstickstoff ermittelt, der theoretisch das Doppelte des Partialstickstoffs betragen muss. Die Gesamtstickstoffbestimmungen sind nach der Kjeldahl'schen Methode ausgeführt worden, die Partialstickstoffbestimmung jedoch nach der Schulze'schen nur unter Anwendung der oben beschriebenen Säureconcentration (50 ccm H_2O, 10 ccm conc. H_2SO_4 oder HCl). Der Kupfergehalt der Verbindung endlich wurde durch Glühen zuletzt auf dem Gebläse ermittelt.

Die Resultate sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

Stab I enthält die angewendete Menge der Substanz,
- II enthält die gefundene Menge der Kupferverbindung,
- III, IV und V geben die Resultate der Analyse: Gesamt-, Partial-Stickstoff, Kupfergehalt; die letzte Reihe giebt die wiedergefundene Menge Asparagin an.

Das Asparaginkupfer $(C_4H_7N_2O_3)_2Cu$ verlangt

17,2 % Gesamt- } N
8,6 % Partial- }
19,51 % Kupfer.

Tabelle 2.

Stab I	II	III	IV	V	VI
Asparagin in gr	Kupferverbindung in gr	Kupfergehalt in Proc.	Gesamt-N in Proc.	Partial-N in Proc.	Asparagin gefunden in Proc.
2,035	1,663	19,01	16,94	8,42	75,3
1,0835	0,828	18,89	17,133	8,61	70,43

Mit Asparaginsäure wurden zwei Versuche in derselben Weise angestellt, nicht um die Beständigkeit derselben beim genannten Verfahren zu prüfen, sondern um zu sehen, wieviel von der angewendeten Substanz wiedergefunden werden kann.

Auf Asparaginsäure musste Rücksicht genommen werden, weil die Möglichkeit des Überganges von Asparagin in das asparaginsaure Ammon durch Aufnahme von 1 Mol. Wasser im Tierorganismus gegeben war. Auch hier wurde die Kupferverbindung, welche sich leicht auf Zusatz von Kupferacetat in schönen, blau gefärbten, prismatischen Krystallen ausscheidet, bei 100° getrocknet und auf gewogenem Filter bestimmt. Da jedoch asparaginsaures Kupfer mit $4^1/_2$ Mol. Wasser krystallisiert, die bei 100° nicht vollständig entweichen, so wurde nur so lange getrocknet, bis der Niederschlag sich leicht vom Filter ablöste und man annehmen konnte, dass auch das Filter trocken war. Man erhält so ein asparaginsaures Kupfer mit wechselndem Krystallwassergehalt, über dessen Reinheit jedoch das Verhältnis von Stickstoff zum Kupfer Aufschluss giebt.

Dieses ist beim asparaginsauren Kupfer 1 : 1
- - - Asparaginkupfer 4 : 1
- - - Glycocoll, Sarkosin etc. 2 : 1.

Tabelle 3.

Stab I	II	III	IV	V	VI
Gebrauchte Asparaginsäure in gr	Kupferverbindung in gr	Analyse derselben: Kupfergehalt in Proc.	Analyse derselben: Gesamt-N in Proc.	Analyse derselben: Partial-N in Proc.	Gefunden Asparaginsäure in Proc.
0,999	1,505	26,55	6,1	0,04	83,76
1,000	1,4395	27,76	6,29	0,08	86,10

Es wurde wiedergefunden:

Asparagin 70—75 %
Asparaginsäure 83—86 %.

Entsprechen diese Resultate auch nicht den Anforderungen einer quantitativen Analyse und den Erwartungen, welche bei der Schwerlöslichkeit der reinen Kupferverbindungen von Asparagin und Asparaginsäure

gehegt werden konnten, so haben sie doch, was für den vorliegenden Fall der Zweck war, gezeigt, dass Asparagin und Asparaginsäure unter den gegebenen Verhältnissen sich als beständig erweisen und wenigstens der Hauptmenge nach wiedergewonnen werden können.

Es ist nicht ausgeschlossen, dass die Fällbarkeit des Asparagins und der Asparaginsäure durch Kupferacetat zur quantitativen Bestimmungsmethode wird ausgearbeitet werden können, wenn die günstigsten Bedingungen für die Abscheidung der Kupferverbindungen genau ermittelt sind. In solchem Falle würde auch die Bestimmung eines Asparagin- und Asparaginsäure-Gemisches möglich sein. Beide würden gleichzeitig als Kupferverbindungen gefällt und aus dem Gehalt an Gesamt- und Partialstickstoff und dem an Kupfer könnte das Verhältnis von Asparagin zur Asparaginsäure sowie die absolute Menge beider Componenten berechnet werden.

Asparaginsaures Kupfer (wasserfrei) verlangt

7,2 % Gesamt-N
0,0 % Partial-N
32,65 % Kupfer.

Asparaginkupfer $(C_4 H_7 N_2 O_3)_2 Cu$ verlangt

17,2 % Gesamt-N
8,6 % Partial-N
19,51 % Kupfer.

Wie angegeben, krystallisiert asparaginsaures Kupfer mit $4^1/_2$ Mol. Wasser, das bei 100° nicht vollständig entweicht.

Es genügt auch hier, das Gemenge der Kupferverbindungen so lange zu trocknen, bis der Niederschlag sich leicht vom Filter nehmen lässt und dieses selbst trocken ist.

Die wechselnden unbekannten Mengen Krystallwasser, welche der Niederschlag enthält, hat man nicht nötig zu bestimmen, da für die Berechnung das Verhältnis von Stickstoff zum Kupfer genügt.

Von den drei durch Analyse leicht zu ermittelnden Zahlen viz: Gesamt-N, Partial-N und Kupfer sind jedesmal 2 ausreichend, um den procentischen Gehalt von Asparaginkupfer und asparaginsaurem Kupfer zu ermitteln, nämlich entweder

1. Gesamt- und Partialstickstoff oder
2. Gesamtstickstoff und Kupfer oder
3. Partialstickstoff und Kupfer.

Der jeweilige dritte Wert kann aus den beiden anderen berechnet werden.

Bestimmt man ihn ausserdem durch Analyse, so hat man durch Vergleich beider Werte eine Controle für die Richtigkeit der Analyse und die Reinheit des Gemisches.

Der nachfolgenden Berechnung sind die Werte: Gesamtstickstoff und Kupfer zu Grunde gelegt.

Bezeichnet man den zu berechnenden Gehalt an asparaginsaurem Kupfer mit x, den an Asparaginkupfer mit y, die gefundene Menge Gesamtstickstoff in % mit a und die gefundene Menge Kupfer in % mit b, so lassen sich leicht die beiden folgenden Gleichungen aufstellen:

$$\alpha)\ x \,.\, 7{,}2 + y \,.\, 17{,}2 = a \,.\, 100 \qquad 1$$

$$\beta)\ x \,.\, 32{,}65 + y \,.\, 19{,}51 = b \,.\, 100 \qquad 2$$

Hieraus ergeben sich nach Elimination je einer Unbekannten für die zweite die folgenden Werte:

$$x = \frac{(17{,}2 \,.\, b - 19{,}51 \,.\, a) \,.\, 100}{17{,}2 \,.\, 32{,}65 - 7{,}2 \,.\, 19{,}51} \qquad 3$$

$$y = \frac{(32{,}65 \,.\, a - 7{,}2 \,.\, b) \,.\, 100}{17{,}2 \,.\, 32{,}65 - 7{,}2 \,.\, 19{,}51} \qquad 4$$

Der Nenner ist in beiden (3 und 4) Gleichungen derselbe und unabhängig von der jeweiligen Beschaffenheit des Gemisches. Er ist gleich 421, 108.

Giebt y den procentischen Gehalt des Gemisches an Asparaginkupfer an, so ist $y \,.\, \frac{17{,}2}{100}$ der auf Asparagin selbst entfallende Gesamtstickstoff und $y \,.\, \frac{8{,}6}{100}$ der berechnete Partialstickstoff desselben, welcher mit dem durch die Analyse ermittelten übereinstimmen muss.

Die in folgender Tabelle aufgeführten, mit einem Gemisch von Asparagin und Asparaginsäure angestellten Versuche sind in derselben Weise ausgeführt worden, wie die Versuche mit Asparagin und Asparaginsäure für sich.

Die Versuche sollen nur die praktische Durchführbarkeit der Methode zeigen, machen dagegen auf quantitative Bestimmung der Componenten keinen Anspruch. Selbstverständlich wird eine solche nur dann möglich sein können, wenn jeder der Componenten für sich quantitativ bestimmt werden kann.

Die Tabelle ist beim Vergleich mit den früher gegebenen ohne weiteres verständlich und bedarf keiner Erklärung.

Unter der Tabelle sind in einer Horizontalreihe die für die einzelnen Gemische berechneten und gefundenen Werte an Partialstickstoff angegeben.

Tabelle 4.

Stab I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX
				Analyse d. Verbindg			Gefunden	
Nummer des Versuchs	dessen Gemisch	Gewicht	Gewicht der Kupferverbindung	Gesamt-N	Partial-N	Kupfergehalt	Asparagin	Asparaginsäure
		gr	gr	Proc	Proc.	Proc.	Proc.	Proc.
1	Asparagin 1,0000 Asparaginsäure 0,8085		2.04	7,74	2,0	20,89	45,8	85,6
2	Asparagin 1,0024 Asparaginsäure 1,013		2,236	7,72	1,46	22,90	42,7	87,4
3	Asparagin 1,003 Asparaginsäure 1,0015		2,3715	8,7	2,72	22,15	64,5	89,2
4	Asparagin 1,0005 Asparaginsäure 1,0000		2,0025	6,28	0,78	22,86	60,6	89,4
	Im Filtrat noch gefunden		0,4955	16,4	—	19,61		

Versuch		1	2	3	4	
		Proc.	Proc.	Proc.	Proc.	
Partial-N	gefunden:	2,00	1,46	2,72	0,78	für die
	berechnet:	2,08	1,78	2,54	0,82	Gemische.

Die mitgeteilten Resultate beweisen wohl unzweifelhaft die Brauchbarkeit der genannten Methode.

Es gelingt in der That, durch Analyse eines Gemisches von Asparaginkupfer und asparaginsaurem Kupfer den procentischen Gehalt beider Componenten festzustellen.

Der berechnete Wert an Partialstickstoff stimmt mit dem durch Analyse gefundenen in allen Fällen, mit

Ausnahme etwa von Versuch 2, innerhalb der Fehlergrenzen überein.

Es wurde von Asparaginsäure 81,2 – 89,4% wiedergefunden, von Asparagin allerdings nur 42,7 – 64,5%.

Obwohl Asparaginkupfer fast unlöslich in Wasser ist, scheidet es sich doch auf Zusatz von Kupferacetat nur ausserordentlich langsam ab; es ist demnach sehr schwierig, die richtige Menge des Fällungsmittels abzupassen. Selbst nach 24 stündigem Stehen der Lösung enthalten die Filtrate noch grosse Mengen von Asparaginkupfer, von denen ein weiterer Teil durch Eindampfen des Filtrates und Aufnahme mit Wasser oder besser mit gleichen Teilen Wasser und Alkohol und Nachwaschen mit denselben Flüssigkeiten gewonnen werden kann.

Nachweis von Asparagin in Organen und Blut.

Nachdem im Vorgehenden die Methoden zur annähernd quantitativen Bestimmung des Asparagins beschrieben sind, handelt es sich darum, die Brauchbarkeit derselben für tierische Säfte und Organe zu erörtern und experimentell zu prüfen. Es muss, so lange die in den Organen und Gewebsflüssigkeiten enthaltenen N-haltigen Körper nicht vollständig bekannt sind und ihr Verhalten gegen Säuren nicht geprüft ist, stets fraglich erscheinen, ob bei Anwendung der Schulze'schen Methode zur Bestimmung des Asparagins der gesamte, beim Kochen mit verdünnten Säuren in Form von Ammoniak abspaltbare Stickstoff auf Kosten des Asparagins zu setzen ist.

Es darf, wie schon erwähnt, die Flüssigkeit, in der Asparagin bestimmt werden soll, nicht andere Körper enthalten, die beim Kochen mit verdünnten Säuren Ammoniak liefern.

Nun wissen wir, dass in den Organen: Leber, Milz und Blut ausser Eiweisskörpern noch eine Reihe anderer N-haltiger Körper vorkommen. Hierzu gehören die Amidosäuren: Leucin, Tyrosin, Glycocoll etc., ferner Harnsäure, die Nucleïnbasen wie Guanin, Adenin, Xanthin und Hypoxanthin.

Alle diese Verbindungen sind jedoch nur in sehr geringer Menge in den genannten frischen normalen Organen vorhanden. Von dem grössten Teil derselben,

wie Harnsäure und die Nucleïnbasen, sowie für die Amidosäuren ist die Beständigkeit gegen heisse Säuren im diluierten Zustande erwiesen. Endlich ist zu berücksichtigen, dass die genannten Nucleïnbasen ebenso wie Ammoniak bei Entfernung der letzten Mengen von Eiweiss aus den Organen in den Fällen, wo Schwefelsäure und Phosphorwolframsäure angewendet wurde, mitgefällt werden, somit also in dem Filtrate, in dem das Asparagin bestimmt werden soll, nicht mehr vorhanden sind.

Ebenso würde Harnsäure bei der Entfernung der überschüssigen Schwefelsäure und Phosphorwolframsäure durch Baryt als in Wasser unlösliche Barytverbindung mitgefällt werden.

Somit könnte nur noch der Harnstoff selbst in Betracht kommen.

Derselbe wird schon beim Erhitzen mit Wasser langsam, schneller beim Erwärmen mit Säuren in Ammoniak und Kohlensäure zerlegt; er muss also bei der Bestimmung des Partialstickstoffs als Asparagin mit in Rechnung kommen.

Bei Anwesenheit von Harnstoff neben Asparagin kann aber die Bestimmung des Gesamtstickstoffs neben der des Partialstickstoffs zur Ermittelung der wirklich vorhandenen Mengen von Asparagin führen; denn nach einstündigem Kochen einer Lösung von Asparagin und Harnstoff (50 ccm H_2O + 10 ccm conc. H_2SO_4) wird sowohl der Gesamtstickstoff des Harnstoffs als auch die Hälfte des Asparaginstickstoffs in Form von Ammoniak abgespalten.

Bei der Bestimmung des Stickstoffs nach der Kjeldahl'schen Methode erhalten wir dagegen Gesamtstickstoff aus Harnstoff plus Gesamtstickstoff aus Asparagin, die Differenz giebt also wiederum Partialstickstoff des Asparagins an.

Der Harnstoff findet sich als normaler Bestandteil der Organe und des Blutes, wenigstens beim Menschen und den Tieren, die hier in Frage kommen, nur in geringer Menge vor. Im Blute sind 0,2—0,9 pro Mille enthalten, entsprechend 0,0093—0,042 mgr Stickstoff auf 100 ccm Blut[28]).

[28]) v. Schröder fand in zwei Analysen des Rinderbluts 0,0156 gr

In Leber und Milz findet sich der Harnstoff gleichfalls nur in Spuren, doch soll der Gehalt der Leber an Harnstoff nach Nahrungsaufnahme wachsen. Jedenfalls ergiebt sich aus dem Gesagten, dass, wenn Asparagin in irgendwie erheblicher Menge in den Organen vorhanden ist, der geringe Normalgehalt an Harnstoff die Bestimmung des Asparagins nach Schulze nur mit einem geringen Fehler behaften wird, der noch durch die Bestimmung des Gesamtstickstoffs rectificiert werden kann.

Doch ist unsere Kenntnis von den N-haltigen Bestandteilen der Organe zweifellos noch nicht abgeschlossen, wir wissen nicht, ob neben dem Harnstoff nicht noch andere, durch Phosphorwolframsäure nicht fällbare Stoffe vorhanden sind, die sowohl die Partial- als auch die Totalstickstoffbestimmung beeinflussen können.

Aus diesem Grunde war es notwendig, diejenigen Organe, welche bei den nachfolgenden Fütterungsversuchen untersucht werden sollen, auf ihren Normalgehalt an genannten N-haltigen Körpern zu prüfen. Es wurden zunächst je 50 ccm Ochsenblut, wie früher angegeben, nach Verdünnen mit dem 3- bis 4fachen Volumen heissen Wassers durch Essigsäure und Sodalösung enteiweisst, der Rest der Eiweisskörper wurde nach dem zuerst angegebenen Verfahren durch Salzsäure und Kaliumquecksilberjodid gefällt, die Filtrate eingedampft, auf ein bestimmtes Volumen angefüllt und in gemessenen Teilen der Flüssigkeit der Gesamtstickstoff nach Kjeldahl und der Partialstickstoff durch Kochen mit diluierter Schwefelsäure bestimmt.

Tabelle 5.

Normalgehalt des Ochsenblutes an durch Kaliumquecksilberjodid nicht fällbarem Stickstoff.

Stab I	II	III	IV	V	VI
Nummer des Versuches	Blutmenge	Gesamt-N	Partial-N	Auf 100 ccm Blut berechnet	
				Gesamt-N	Partial-N
	ccm	mgr	mgr	mgr	mgr
1	50	22,4	8,68	44,8	17,36
2	50	26,3	11,34	52,6	22,68
3	300	124,6	38,02	41,5	12,67
			Im Mittel	46,3	16,3

Harnstoff in 50 ccm, entsprechend auf 100 ccm Blut 0,0145 mgr Stickstoff.

Im Mittel aus 3 Versuchen wurden 46,3 mgr Gesamt-N und 16,3 mgr Partialstickstoff auf 100 ccm Blut gefunden.

Die Werte für Gesamtstickstoff schwanken zwischen 41,5 und 52,6; die für Partialstickstoff zwischen 12,67 und 22,68 mgr.

Diese letzte Stickstoffmenge, welche wesentlich auf Kosten des Harnstoffs zu setzen ist, liegt innerhalb der Grenzen, welche aus dem Normalgehalt des Blutes an Harnstoff berechnet sind.

Die Versuche zeigen ferner, dass noch andere stickstoffhaltige Körper vorhanden sein müssen, welche erst beim Erhitzen mit concentrierter Schwefelsäure unter Abspaltung von Ammoniak zersetzt werden, denn die Gesamtstickstoffmenge beträgt ungefähr das Dreifache von der Partialstickstoffmenge.

In der folgenden Reihe von Versuchen wurden zu je 50 ccm Blut je 0,5 gr Asparagin hinzugesetzt, im übrigen wie oben verfahren.

Stab IV und V geben die gefundenen Mengen an Gesamtstickstoff und Partialstickstoff an; Stab VI und VII die für das zugesetzte Asparagin berechneten entsprechenden Werte.

In der unter der Tabelle befindlichen Horizontalreihe finden sich die Differenzen der für das Asparagin berechneten und gefundenen Werte an Stickstoff.

Tabelle 6.

Stab I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
				Gefunden		Verlangt	
Versuchszahl	Angewendete Säure	Blutmenge ccm	Zugesetzt Asparagin gr	Gesamt-N mgr	Partial-N mgr	Ges.-N mgr	Partial-N mgr
1	H Cl	50	0,505	99,96	40,6	94,3	47,15
2	-	50	0,5040	106,96	47,04	94,1	47,02
3	-	50	0,5017	101,64	44,78	93,65	46,82
4	-	50	0,5018	111,44	49,98	93,67	46,83
5	H_2SO_4	50	0,5020	99,68	46,34	93,70	46,85
6	-	50	0,5033	99,12	44,80	93,95	46,97
7	-	50	0,5017	103,88	48,44	93,46	46,73
8	-	50	0,5020	103,04	48,65	93,70	46,85
9	-	50	0,5002	96,60	45,36	93,37	46,69
10	-	50	0,5012	106,40	48,72	93,56	46,78
11	-	50	0,5030	106,58	48,02	93,90	46,95

Differenz zwischen gefundenen und für Asparagin berechneten Werten an Stickstoff.

No.	1	2	3	4	5	6	
Total	+ 5,66	12,68	7,99	17,77	5,98	5,17 mgr	N.
Partial	— 6,55	— 0,01	— 2,04	3,15	— 0,51	— 2,17 -	
No.	7	8		9	10	11	
Total	+ 10,42	9,34		3,23	12,84	12,68 -	
Partial	1,71	— 1,80		— 1,33	1,98	1,07 -	

Im Mittel Total 8,66 mgr, Partial — 2,24 - } N auf 50 ccm Blut.

Die Versuche zeigen ziemlich gut übereinstimmende Resultate. Die Werte für Gesamtstickstoff liegen innerhalb der Grenzen von 96,6—111,44 mgr; die für Partialstickstoff mit Ausnahme eines einzigen, der 40,6 ergab, zwischen 44,78—49,98 mgr.

Im Mittel wurden 8,66 mgr Gesamtstickstoff und 0,24 mgr Partialstickstoff weniger gefunden, als für die zugesetzte Menge Asparagin allein berechnet ist.

Da nun im Normalblut, wie aus der vorhergehenden Tabelle ersichtlich, 23,15 mgr Gesamtstickstoff und 8,15 mgr Partialstickstoff in 50 ccm Blut vorhanden sein sollen, hätte man um so viel höhere Werte für Gesamt- und Partialstickstoff finden müssen.

In der That sind aber bei diesen Versuchen, wenn man die auf Asparagin entfallende Menge abrechnet, nur 8,66 mgr Gesamtstickstoff mehr gefunden und beim Partialstickstoff sind sogar 0,24 mgr weniger gefunden worden, als für Asparagin allein berechnet ist, eine Thatsache, die nur durch das mangelhafte Auswaschen der Coagula der Eiweisskörper erklärt werden kann.

Dennoch wurde gerade hierauf besondere Sorgfalt verwendet. Das Coagulum wurde zweimal mit je 200 ccm Wasser (heiss) ausgewaschen und ausgespresst, in manchen Fällen sogar drei- und viermal.

Bei den folgenden Versuchen wurde zur Entfernung der letzten Mengen Eiweiss Gerbsäure und in einem Falle Kaliumbichromat angewendet.

Bei den Versuchen mit Gerbsäure wurden von dem Normalgehalte des Blutes nach Abzug des Asparaginstickstoffs 4,7 mgr Total- und 3,76 mgr Partialstickstoff gefunden; sie geben also für ersteren etwas schlechtere, für letzteren Stickstoff etwas bessere Resultate als die Versuche mit Kaliumquecksilberjodid.

Tabelle 7.

Eiweissreste durch Gerbsäure entfernt.

Stab I	II	III	IV	V	VI	VII
			Gefunden		Berechnet	
Versuchs-nummer	Blutmenge	Zugesetzt Asparagin	Gesamt-N	Partial-N	Gesamt-N	Partial-N
	ccm	gr	mgr	mgr	mgr	mgr
1	50	0,497	99,4	55,16	92,77	46,38
2	50	0,504	102,2	45,72	94,10	47,05
3	50	0,502	92,96	50,68	93,70	46,85

Differenz zwischen gefundenen und berechneten Werten:

Total- } N	6,6 mgr	8,10 mgr	— 0,74 mgr
Partial- } N	8,78 -	— 1,33 -	+ 3,83 -

Im Mittel Total- } N 4,70 mgr
Partial- } N 3,76 -

Tabelle 8.

Eiweissrest entfernt durch Kaliumbichromat.

In 50 ccm Blut, dem 0,5012 gr Asparagin zugesetzt war, wurden

gefunden Gesamt-N	118,58 mgr
berechnet - -	93,56 -

Differenz zwischen gefunden. und berechnet. N 25,02 mgr

In dem Versuche mit Kaliumbichromat, in dem die Partialstickstoffbestimmung missglückte, wurden 25,02 mgr Gesamtstickstoff für normales Blut berechnet, ein Wert, der mit den früheren direct ermittelten 23,15 mgr gut übereinstimmt.

Von einer weiteren Anwendung des Kaliumbichromats wurde aus schon früher angegebenen Gründen Abstand genommen, umsomehr, als wir in der Phosphorwolframsäure ein Reagens gewonnen haben, das die Eiweisskörper vollständig ausfällt und zugleich gestattet, Asparagin sowohl durch die Schulze'sche Methode als auch durch Fällung mit Kupferacetat nachzuweisen.

Es handelt sich nur noch darum, zu prüfen, ob es mit dieser Methode gelingt, nach Zusatz von Asparagin zum Blute ausser dem Stickstoffgehalt des Asparagins selbst, den normal im Blute vorkommenden Stickstoff vollständig wiederzufinden.

Für diese Versuche wurden ausser Blut noch Leber und Milz von einem Hunde genommen, als von dem Versuchstiere für spätere Fütterungsreihen.

Einem kleinen wohlgenährten Hunde wurden zunächst aus der Carotis 150 ccm Blut entnommen und defibriniert. Nach Verblutung das Abdomen zur Eventration geöffnet.

Die Leber und Milz wurden noch lebensfrisch und warm zerkleinert und in zwei gleiche Portionen geteilt, zu deren einer Asparagin hinzugesetzt wurde.

Beide Teile wurden darauf unter Essigsäure- und Sodazusatz coaguliert, der Rest der Eiweisskörper durch Schwefelsäure und Phosphorwolframsäure entfernt, der Überschuss des Fällungsmittels durch Baryt und der des letzteren durch Kohlensäure herausgeschafft. In den nunmehr erhaltenen Filtraten wurden die restierenden Mengen an Gesamt- und Partialstickstoff bestimmt. In gleicher Weise wurde das Blut für sich und schliesslich Blut, dem Asparagin zugesetzt wurde, behandelt.

Tabelle 9.

Hund 1.

Stab I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX
			Gefunden		Verlangt für Asparagin		Differenz	
Versuchs-No.	Blutmenge	Zugesetzt Asparagin	Gesamt-N	Partial-N	Gesamt-N	Partial-N	Gesamt-N	Partial-N
	ccm	gr	mgr	mgr	mgr	mgr	mgr	mgr
1	50	—	28,84	8,68	—	—	28,84	8,68
2	50	0,5034	128,32	56,34	94,0	47,0	34,32	9,34
3	50	0,5044	127,68	54,46	94,0	47,0	33,68	7,46
				Aus 2 und 3 im Mittel			34,0	8,4

In Stab I ist die Versuchsnummer, in II die gebrauchte Blutmenge, in III die hinzugesetzte Asparaginmenge, in IV und V ist die in den Endfiltraten noch vorhandene Gesamt- und Partialstickstoffmenge enthalten, während VIII und IX die Differenz zwischen den gefundenen und den für Asparagin berechneten Werten an Stickstoff anzeigt.

Der Unterschied ist als Normalgehalt des Blutes an durch Schwefelsäure und Phosphorwolframsäure nicht fällbarem Stickstoff anzusehen.

Ein zweiter Hund, in schlechtem Ernährungszustande und nach 24 stündiger Hungerperiode, wurde zu einem zweiten derartigen Versuche gebraucht und sonst in gleicher Weise behandelt.

Tabelle 10.

Hund 2.

Stab I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX
Versuchs-No.	Blutmenge	Zugesetzt Asparagin	Gefunden		Verlangt für Asparagin		Differenz	
			Gesamt-N	Partial-N	Gesamt-N	Partial-N	Gesamt-N	Partial-N
	ccm	gr	mgr	mgr	mgr	mgr	mgr	mgr
1	50	—	177,0	42,84	—	—	177,0	42,84
2	50	0,48	271,8	—	89,6	44,8	182,2	—
3	42	0,48	250,0	82,04	89,6	44,8	160,4	37,24
4 Milz	6,5 gr	0,48	124,15	52,92	89,6	44,8	34,55	8,12
5 Leber	60,0 -	0,48	292,0	105,04	89,6	44,8	202,40	60,2
6	60,0 -	—	174,83	--	—	—	174,38	—

Zieht man von den Stickstoffzahlen, die bei der Untersuchung der mit Asparagin versetzten Organe erhalten worden sind, die auf Asparagin entfallende Stickstoffmenge ab, so resultieren Werte (Stab VII, VIII), welche mit denen bei der Untersuchung der Organe für sich gewonnen ziemlich gut übereinstimmen.

Im Blute von Hund 1 wurde direct gefunden: in 50 ccm Blut 28,64 mgr Gesamtstickstoff und 8,68 Partialstickstoff.

Nach Abzug des Asparaginstickstoffs ergiebt sich bei den anderen Versuchen im Mittel 34 mgr Gesamtstickstoff und 8,4 mgr Partialstickstoff.

Der Unterschied beim Gesamtstickstoff ist demnach 5,4 mgr, beim Partialstickstoff sogar nur 0,28 mgr.

In gleicher Weise wurde in der Milz von Hund 1 gefunden:

Normal wurde direct gefunden, auf 12 gr Milz umgerechnet, 23,6 Gesamt- und 4,89 mgr Partialstickstoff.

Bei dem anderen Versuche wurden indirect 35,2 mgr Gesamt- und 5,16 mgr Partialstickstoff gefunden.

Der Unterschied beträgt 11,6 mgr Gesamt- und 0,27 mgr Partialstickstoff. Der Partialstickstoff ist auch hier in beiden Fällen fast derselbe.

Beim zweiten Hunde wurde, auf 50 ccm Blut umgerechnet, gefunden

direct: 177 mgr Gesamt-, 42,84 Partial-N
indirect: 186,6 - - , 44,33 - -

Differenz: 9,6 mgr Gesamt-, 1,49 Partial-N.

Bei der Leber wurde gefunden
direct: 174,8 mgr Gesamt-, — Partial-N
indirect: 202,4 - - , 60,2 - -

Differenz: 27,6 mgr Gesamt-N.

In diesen Versuchen tritt eine sehr gute Übereinstimmung gerade der Partialstickstoffzahlen hervor; es gelingt also, das zu den Organen hinzugesetzte Asparagin wiederzufinden und zu berechnen, wenn man von der gefundenen Partialstickstoffmenge die in den Organen normal vorhandene Partialstickstoffmenge abzieht.

Hat nun diese abzuziehende Partialstickstoffmenge für jedes Organ, auf die Gewichtseinheit bezogen, stets dieselbe Grösse, oder schwankt sie wenigstens innerhalb so enger Grenzen, dass die Unterschiede bei der Berechnung des Asparagins nicht wesentlich in Betracht kommen?

Ein Vergleich der bei Hund 1 und 2 erhaltenen Resultate zeigt nun aber den Normalstickstoffgehalt sehr schwankend.

Während bei Hund 1 normal im Blute 28,84 mgr Gesamt- und 8,68 mgr Partialstickstoff vorhanden sind, steigen die entsprechenden Werte bei Hund 2 auf 177,0 mgr Gesamt- und 42,84 mgr Partialstickstoff.

Auf 100 gr Leber berechnet, ergeben sich als Normalgehalt an Stickstoff

bei Hund 1 161,7 mgr Gesamt-, 38,4 mgr Partial-N
- - 2 291,3 - - , 100,3 - - -

Auf 12 gr Milz berechnet ergeben sich

bei Hund 1 23,6 mgr Gesamt-, 4,89 mgr Partial-N
- - 2 63,8 - - , 15,0 - - -

Wir sehen also durchgehends beim Blute und den untersuchten Organen des zweiten Hundes eine bedeutende Steigerung des Stickstoffgehaltes.

Die Unterschiede fallen umsomehr auf, als man aus der Tabelle ersieht, wie das für sich untersuchte Blut von Hund 2 mehr durch Schwefelsäure + Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Stickstoff enthält, als das mit 0,5 gr Asparagin versetzte Blut von Hund 1. — Ebenso gross sind die Unterschiede bei Leber und Milz.

Die Schwankungen im Normalgehalt, welche zweifellos abhängig sind von der Individualität, vor allem aber von dem Ernährungszustande des Versuchstieres, sind so bedeutend, dass bei der Verarbeitung von nur 50 ccm Blut schon ein Fehler von 0,5 Asparagin gemacht werden kann, wollte man aus dem beim Kochen mit verdünnten Säuren abspaltbaren Stickstoff die Asparaginmenge berechnen.

Die Schulze'sche Methode kann daher für den Nachweis des Asparagins in Leber und Milz nicht angewendet werden.

Beim Blute kann sie insofern eine untergeordnete Anwendung finden, als sie beim Vergleich von mehreren, zu verschiedenen Zeiten entnommenen Blutproben desselben Versuchstieres gestattet, ein Anwachsen oder Abfallen des Stickstoffgehaltes zu zeigen. Über das Vorhandensein von Asparagin kann in allen Fällen nur die zweite Methode Aufschluss geben, i. e:

Die Fällung des Asparagins mit Kupferacetat und die Analyse des Niederschlages.

Bisher wurden nur Versuche ausgeführt, Asparagin und Asparaginsäure nach Ausführung verschiedener Manipulationen aus wässrigen Lösungen durch Kupferacetat zu fällen. In wie weit Asparagin oder Asparaginsäure, zum Blute hinzugesetzt, nach dieser Methode wiedergefunden werden kann, sollen nunmehr die folgenden Versuche zeigen.

Asparagin und Asparaginsäure wurden in wässriger Lösung mit Soda neutralisiert, dem mit heissem Wasser versetzten Blute hinzugefügt.

Die weitere Ausführung der Versuche geschah in der früher angegebenen Weise: Coagulation in der Wärme mit Essigsäure und Soda; folgende Nachwaschung des Coagulum und Fällung des Filtrates durch Schwefelsäure + Phosphorwolframsäure, Behandlung mit Baryt und Kohlensäure, Eindampfen und Fällung mit Kupferacetat, der event. Niederschlag getrocknet, gewogen und analysiert

zum Nachweis der Identität; dieser Nachweis verstärkt durch das Mikroskop.

Tabelle 11.

Stab I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
			Analyse			Gefunden	
Blutmenge ccm	Zugesetzt Asparagin gr	Gefunden Kupferverbindung gr	Gesamt-N Proc.	Partial-N Proc.	Kupfergehalt Proc.	Asparagin Proc.	Asparaginsäure Proc.
50	1,2112 Asparaginsäure	0,8725	16,34	8,9	18,88	60,3	—
50	1,0	1,384	6,3	—	27,6	—	79,9
50	1,0076	1,241	5,34	—	23,8	—	61,4

Von Asparagin wurden wiedergefunden 60,3 %, von Asparaginsäure 61,4—80 %. Für die vorliegende Untersuchung handelt es sich ja auch weniger um die quantitative Bestimmung des Asparagins als darum, nachzuweisen, ob es überhaupt noch in den Organen aufzufinden sei. Ein ziemlich bedeutender Teil von Asparagin musste allerdings bei der obigen Methode sich der Fällung mit Kupferacetat entziehen, doch giebt die intensive Blaufärbung, welche auf Zusatz von Kupferacetat zu wässrigen Lösungen entsteht, selbst geringe Mengen von Asparagin an.

Ehe ich zu den Fütterungsversuchen mit Asparagin übergehe, sei es mir gestattet, die Resultate meiner Vorversuche hier zu resümieren.

1. Asparagin wird selbst durch eine 33,33 Vol.-% conc. Salzsäure oder Schwefelsäure nur bis zu Asparaginsäure und Ammoniak zersetzt. Bei quantitativen Bestimmungen des Asparagins oder anderer Säureamide dürfte es sich daher empfehlen, zur schnelleren und sicheren Zersetzung an Stelle der bisher gebrauchten 10 Vol.-% conc. Salzsäure oder 3 Vol.-% conc. Schwefelsäure eine 20 Vol.-% conc. Salzsäure oder Schwefelsäure zu gebrauchen.

2. Die Enteiweissung des Blutes und der Organe kann durch Essigsäure und Soda mit sich anschliessender Fällung durch Schwefelsäure und Phosphorwolframsäure bewirkt werden.

3. Asparagin und Asparaginsäure können nach Enteiweissung aus Blut und Organen sehr gut durch

Kupferacetat gefällt werden; eine Umwandlung von Asparagin in Asparaginsäure findet dabei nicht statt.

4. Asparagin und Asparaginsäure, durch Kupferacetat gefällt, können aus ihrem Gemisch isoliert und bestimmt werden. Der procentische Gehalt an Asparagin-Kupfer und asparaginsaurem Kupfer wird am besten aus dem Kupfer- und Gesamt-Stickstoff-Gehalt des Niederschlages berechnet und durch den beim Kochen mit verdünnten Säuren abspaltbaren Stickstoff controlliert.

5. Asparagin oder Säureamide überhaupt können nach der Schulze'schen Methode in Organen nicht nachgewiesen werden.

Fütterungsversuche mit Asparagin.

Aus den bisherigen mit Asparagin angestellten Fütterungversuchen hat sich bezüglich seiner Umsetzung im Tierorganismus nur das mit Sicherheit ergeben, dass es mit dem Harn als Harnstoff ausgeschieden wird.

Über die Natur des hierbei stattfindenden Processes sowie über den Ort der Umwandlungen in Harnstoff ist nichts bekannt.

So lange es nicht gelingt, bestimmte Zwischenstufen des Asparagins bis zur Umwandlung in Harnstoff aufzufinden, wird man über die Art der Umwandlung nur Vermutungen hegen können.

Was jedoch die Frage nach dem Orte der Umwandlung betrifft, so liegen hier Erfahrungen von grosser physiologischer Bedeutung vor, welche bei anderen Harnstoffbildnern, sogenannten Vorstufen des Harnstoffs, gewonnen worden sind.

Nachdem durch eine Reihe von Forschern, viz: v. Knieriem, Salkowski, Munk, Schmiedeberg, Bunge, Walter und andere gezeigt worden war, dass Ammoniumcarbonat, sowie alle Ammonsalze organischer Säuren, die im Tierkörper zu Kohlensäure verbrannt werden, den Organismus von Fleisch- und Pflanzenfressern als Harnstoff verlassen, hat von Schroeder[29]) als Ort der Umwandlung der genannten Salze in Harnstoff die Leber kennen gelehrt. Er leitete Blut, einem hungernden Hunde entnommen, durch die lebensfrische Leber des-

[29]) Arch. für experiment. Patholog. und Pharmacie, 15, S. 365.

selben Tieres, indem er den künstlichen Blutkreislauf in die Vena portarum eintreten liess.

Die dem Blut zugesetzten Ammonsalze verschwanden auf dem Wege durch die Leber und an ihre Stelle war eine bedeutende Vermehrung des Harnstoffs in dem Blute, aus der Cava oberhalb des Zwerchfells gewonnen, getreten.

Was diese Untersuchungen von Schroeder noch wertvoller macht, das ist die Musterharnstoffbestimmung; der Harnstoff wurde in reinen Krystallen gewogen und analysiert. Die Resultate sind später von W. Salomon[30]) bestätigt worden durch Versuche, welche nicht nur an Hunden, sondern auch am Schafe ausgeführt wurden. In ähnlicher Weise wurden von v. Schroeder auch an anderen Organen Durchblutungsversuche gemacht, die zu dem Ergebnis führten, dass weder die Nieren noch die Muskeln und die Gewebe des Körpers die Fähigkeit haben, aus kohlensaurem Ammon Harnstoff zu bilden. Lange Zeit glaubte man den Nieren eine besondere harnstoffbildende Thätigkeit zuschreiben zu sollen; dagegen sprechen zahlreiche, dieses Thema behandelnde Arbeiten von Prevost und Dumas, Meissner, Voit, Salkowski und v. Schroeder, welche feststellten, dass nach Nierenexstirpation eine bedeutende Vermehrung des Harnstoffs im Blute stattfindet.

Sie stellten somit fest, dass, wenn überhaupt, die Nieren nicht der ausschliessliche Ort der Harnstoffbildung sein können.

Die Leber ist mithin das einzige Organ, in welchem bisher die Bildung von Harnstoff mit Sicherheit nachgewiesen wurde.

Wenn nun auch, wie gesagt, nicht bewiesen ist, dass ausser der Leber nicht noch andere Organe der Harnstoffbildung dienen, und wenn auch die bei den Ammonsalzen gewonnenen Resultate nicht ohne weiteres auf die Amidosäuren übertragbar sind, so muss doch die Vermutung, dass auch für diese Körper die Umwandlungsstätte in Harnstoff die Leber sei, sehr nahe liegen, eine Vermutung, die schon v. Schroeder ausgesprochen hat.

---

[30]) Virchow's Archiv, 97, S. 149.

Die Frage nach dem Orte der Endzersetzung des Asparagins in Harnstoff steht mit der vorliegenden, nach dem Orte der beginnenden Zersetzung, im engsten Zusammenhange.

Wir hatten gesehen, dass Ammoniumformiat in der Leber vollständig in Harnstoff umgewandelt wird, ein chemischer Vorgang, der am einfachsten durch Oxydation und gleichzeitige Wasserentziehung vor sich gehend gedacht werden kann, und zwar nach folgender Gleichung:

I. Vorgang

$$2\,H\,COO\,(NH)_4 + O_2 = CO{<}\begin{matrix}ONH_4\\ONH_4\end{matrix} + CO_2 + H_2O;$$

II. Vorgang

$$CO{<}\begin{matrix}ONH_4\\ONH_4\end{matrix} = CO{<}\begin{matrix}NH_2\\NH_2\end{matrix} + 2\,H_2O.$$

Da nun Harnstoff in ähnlicher Weise durch einfache Oxydation aus Asparagin entstehen kann, so liegt kein Bedenken vor, die vollständige Umwandlung des Asparagins bis zu Harnstoff in einem Organe anzunehmen. Alsdann würde die Frage nach der beginnenden und der Endzersetzung des Asparagins coincidiren.

Sollte die Leber jedoch nur die anfänglichen Zersetzungsproducte des Asparagins, d. h. die Zwischenstufen desselben bis zu Harnstoff hervorbringen, so wäre eine Sicherheit über diesen Punkt von grösster Bedeutung für die vorliegenden Untersuchungen insofern, als dann das Lebervenenblut nicht mehr bei der Prüfung auf Asparagin zu berücksichtigen wäre.

Nach den bisherigen Untersuchungen kann man jedoch mit vieler Wahrscheinlichkeit annehmen, dass ebenso wie für die Ammonsalze organischer Säuren, für Asparagin und die Amidosäuren die Leber als Ort der Umwandlung in Harnstoff anzusehen ist. Bei den nachfolgenden Versuchen wurde daher auf dieses Organ das besondere Augenmerk gerichtet und doch andererseits das Carotidenblut, sowie die Milz als dasjenige Organ, über dessen Function wir wenig wissen, und schliesslich die Magen-Darmschleimhaut untersucht.

Versuch I.

Einem kleinen, gewöhnlich ernährten Hunde von 6,55 kgr Körpergewicht, 24 Stunden vor dem Versuche zuletzt gefüttert, wurden 28 gr Asparagin in wässeriger Lösung (Temperatur 30° C.) durch eine Schlundsonde eingeführt.

Nach Ablauf der ersten und auch der dritten Stunde wurden dem Tiere je 100 ccm Blut aus der Carotis entnommen und defibriniert.

Nach der letzten Entnahme wurde das Tier verblutet, die Leber und die Milz, sowie Magen-Darmschleimhaut gewonnen.

Der Organbrei wurde unverzüglich in heisses Wasser gebracht, darauf ebenso wie das Blut nach der auf Seite 32 mitgeteilten Methode behandelt.

Die so vorbereiteten neutralen Endfiltrate wurden schliesslich mit Kupferacetat zur Fällung etwa vorhandenen Asparagins versetzt.

Es trat jedoch auf Zusatz von Kupferacetat weder Blaufärbung auf, noch bildete sich selbst nach 24 stündigem Stehen ein Niederschlag von Asparaginkupfer mit Ausnahme jedoch von dem Endfiltrat der Magen-Darmschleimhaut, aus dem das Asparaginkupfer dargestellt wurde[31]). Die Endfiltrate des Blutes und der Leber wurden deshalb auf ein bekanntes Volumen aufgefüllt und der Gesamtstickstoff nach Kjeldahl bestimmt.

Tabelle 12.

Hund 1.

Stab I	II	III	IV	V
Versuchs-No.	Versuchszeit	Blutmenge ccm	Gesamt-Stickstoff mgr	Gesamt-Stickstoff auf 100 ccm berechnet mgr
1	1 Stunde	90	18,34	20,1
2	3 Stunden	100	146,80	146,80
		Leber		
3	3 -	180 gr	503,3	280,0

[31]) Die Identität mit Asparagin-Kupfer wurde nachgewiesen:
1. durch die charakteristische helle Blaufärbung mit einem Stich in's Violette,
2. durch das Mikroskop,
3. durch die chemische Analyse.

Die Leber, deren Gewicht 180 gr betrug, enthielt 503 mgr an durch Schwefelsäure und Phosphorwolframsäure nicht fällbarem Stickstoff, auf 100 gr Substanz bezogen 280 mgr Stickstoff.

Die Leber des zweiten Hundes von gleichem Gewichte, jedoch ohne Asparaginbeimischung oder Fütterung (S. 33), enthält auf 100 gr Substanz berechnet 291,3 mgr Stickstoff. Es ist also evident, dass der Normalgehalt der Leber an durch Schwefelsäure und Phosphorwolframsäure nicht fällbarem Stickstoff innerhalb weiter Grenzen schwankt.

Beide Vergleichstiere waren in gutem Ernährungszustande; beide hatten 24 Stunden gehungert, ehe sie zur Operation kamen.

Es folgt aus dem Ergebnis, dass die auf Verfütterung von Asparagin aus der Leber erhaltenen Stickstoffzahlen keine weiteren Schlüsse erlauben.

Interessant ist dagegen das Verhalten des Blutes.

100 ccm des eine Stunde nach der Fütterung mit Asparagin entnommenen Blutes enthalten 20,1 mgr an nicht fällbarem Stickstoff; das drei Stunden nach der Verfütterung von Asparagin aus der Carotis gewonnene, also das 2 Stunden später als das Blut der ersten Entnahme untersuchte Blut zeigte ein Ansteigen des nicht fällbaren Stickstoffs auf den 7 fachen Wert; er stieg bis auf 146,8 mgr N in 100 ccm Blut.

Der Hund hatte seit 24 Stunden keine Nahrung aufgenommen und war drei Stunden vor der letzten Blutentziehung mit Asparagin allein gefüttert worden.

Über das Verhalten von Tieren, welche sich im Initialstadium der Inanition befinden, in bezug auf den durch die Säuren nicht fällbaren Stickstoff ist bislang nichts bekannt.

Wir wissen nur, dass bei Carnivoren die Harnstoffausscheidung gleich am ersten Tage der Hungerperiode abzunehmen beginnt.

Mit dieser verminderten Ausscheidung geht jedenfalls ein verminderter Harnstoffgehalt des Blutes einher.

Man hätte daher bei diesem Versuche im Blute eine Verminderung, jedenfalls aber keine Vermehrung erwarten sollen.

Diese $7^1/_2$ fache Vermehrung innerhalb 2 Stunden

durch die um diese Zeit verlängerte Lebensthätigkeit des Tieres kann doch nur so gedeutet werden, dass der Organismus das verfütterte Asparagin erst zwischen der ersten und zweiten Blutentnahme, i. e. 1—3 Stunden nach der Eingabe so verarbeitet hatte, dass schliesslich im Blute der vermehrte Stickstoffgehalt nachweisbar wurde.

Rechnet man diese Zunahme des Stickstoffs auf Asparagin um, so würde sie einem Gehalte von 0,679 gr an solchem auf 100 ccm Blut entsprechen.

Da eine so grosse Menge des Asparagins im Blute durch Kupferacetat gefällt zweifellos durch Blaufärbung oder Niederschlag mit Sicherheit angezeigt wird, so bleibt nur die Annahme übrig, dass der vermehrte Stickstoffgehalt aus bei der Umwandlung des Asparagins in Harnstoff auftretenden Zwischenproducten oder aus Harnstoff selbst herkommt.

Versuch 2.

An einem Hunde, 5,58 kgr Gewicht, wurde dieser erste Versuch nur mit einer grösseren Menge (37 gr) Asparagin wiederholt. Die Brechreize, die beim ersten Hunde mühsam unterdrückt werden konnten, steigerten sich bei diesem Versuche, bis der Hund wohl den grössten Teil, wenn nicht alles, erbrochen hatte.

Mit Nahrung beigebrachtes Asparagin wird besser vertragen. Trotzdem kam der Hund zum Versuch, indem schon nach $^3/_4$ Stunden 75 ccm Blut und nach drei Stunden 100 ccm Blut aus seiner Carotis entnommen wurden.

Das Tier wurde nun verblutet und Leber und Milz verarbeitet.

Asparaginkupfer konnte weder in dem Extract der Leber, noch in dem der Milz nachgewiesen werden. Es fällt auf, dass die Leber so auffallend arm an Stickstoff ist im Vergleich zur vorigen Leber.

Der Stickstoffgehalt des Blutes zeigte, obwohl zwischen beiden Blutentnahmen derselbe Zeitraum für die Resorption und Oxydation wie bei Hund 1 gegeben war, doch nur eine geringe Zunahme — wohl aus dem sehr natürlichen Grunde, weil das Asparagin grösstenteils erbrochen war.

Die Zunahme an Stickstoff entspricht 0,0418 gr

Asparagin, einer Quantität, die wohl doch im Magen retiniert und resorbiert worden ist.

Das Blut zeigt ein wenn auch geringes Ansteigen der Stickstoffgrösse, entsprechend der wachsenden Zeit seit der Fütterung mit Asparagin und wird somit den Versuch 1 zu stützen geeignet sein.

Tabelle 13.

Hund 2.

Stab I	II	III	IV
Versuchs-No.	Blutmenge ccm	Gesamt-N mgr	Auf 100 ccm Blut ber. Gesamt-N mgr
nach $^3/_4$ Std. 1	75	31,5	38,8
- 3 - 2	60	28,0	46,6
- 3 - 3	Leber 160 gr	108,85	68,03

Versuch 3.

Bei diesem Versuche wurde einem kräftigen Tiere von 22,5 kgr Gewicht, das etwa zwei Wochen hindurch 1 kgr mageres Pferdefleisch pro die erhalten hatte, 24 Stunden nach der letzten Nahrungsaufnahme 50 gr Asparagin gegeben.

Der Hund hielt das Asparagin vollständig bei sich.

Nach der zweiten und dritten Stunde wurde aus der Carotis je 100 ccm Blut entnommen und das Tier nach der letzten Entnahme verblutet.

Blut, Leber und Milz wurden wie früher behandelt und auch hier konnte in Leber, Milz und Blut kein Asparagin nachgewiesen werden.

Tabelle 14.

Stab I	II	III
Zeit Std.	Blutmenge ccm	Gesamt-N mgr
2	100	26,04
3	100	35,84

Übereinstimmend mit Versuch 2 nimmt auch hier die Menge des durch Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Stickstoffs in der 2.—3. Stunde zu.

Versuch 4.

In den vorhergehenden Versuchen war das Asparagin Hunden eingeführt worden, die 24 Stunden ohne Nahrung waren.

Dieser Versuch wurde jedoch in der Weise abgeändert, dass das (50 gr) Asparagin, einem Kilo mageren Pferdefleisches beigemischt, dem Hunde vorgelegt, von diesem mit Behagen verzehrt wurde.

Diese Abänderung wurde vorgenommen in der Hoffnung, das Asparagin längere Zeit im Organismus unverändert erhalten zu können, wenn die Organe für die Oxydation von Eiweisskörpern in Anspruch genommen würden.

Gleichzeitig sollte die Menge des während der Dauer des Versuches resorbierten Asparagins ermittelt werden, worüber im vorliegenden Falle nur durch Vergleichung der vor und nach der Asparaginfütterung im Harn stattfindenden Verhältnisse von Stickstoff zum Gesamtschwefel Aufschluss erhalten werden kann.

Daher wurden dem zum Versuche dienenden Hunde von 22,5 kgr Gewicht während einer Reihe von Tagen täglich 1 kgr mageres Pferdefleisch, dessen Stickstoffgehalt nach vorgenommenen Analysen 3,4—3,5 % betrug, verfüttert und der 24 stündige Harn auf Stickstoff und Schwefel untersucht.

Der Gesamtschwefel wurde durch Veraschen des Trockenrückstandes vom Harn mit Soda und Salpeter im Platintiegel, der Stickstoff nach Kjeldahl bestimmt.

Die Resultate sind in folgender Tabelle verzeichnet.

Tabelle 15.

Harn vor der Asparaginfütterung.

Stab I	II	III	IV	V
Menge ccm	Spec. Gewicht	Gesamt-N gr	Gesamt-S als H_2SO_4 gr	$N : H_2SO_4$
1250	1,048	32,41	5,610	5,77 : 1
950	1,049	32,27	5,832	5,33 : 1
800	1,049	32,73	5,720	5,72 : 1
1000	1,0495	32,14	5,460	5,89 : 1
650	1,050	31,30	5,863	5,34 : 1
625	1,051	30,27	5,260	5,75 : 1
850	1,0505	30,34	5,700	5,32 : 1
			Im Mittel	5,6 : 1

Stab I giebt die 24 stündige Harnmenge an,
- II dessen spec. Gewicht,
- III den Gesamtstickstoff,
- IV den Gesamtschwefel als Schwefelsäure,
- V das Verhältnis von Stickstoff zur Schwefelsäure.

Das Verhältnis von Stickstoff zur Schwefelsäure schwankt zwischen 5,32 : 1 und 5,89 : 1, es beträgt im Mittel 5,6 : 1.

Am Morgen des 8. Tages erhielt der Hund 1 kgr mageres Fleisch, in dem 50 gr Asparagin feingepulvert verrieben waren.

Nach Ablauf der 5. und 6. Stunde wurden je 100 ccm Blut aus der Carotis entnommen, das Tier schliesslich durch Verbluten getötet. Der Harn, welcher während des Versuches gelassen wurde, ist in eine Schale aufgefangen und mit dem nach dem Verbluten aus der Harnblase entleerten vereinigt worden.

In Leber und Milz war kein Asparagin nachzuweisen. Das Blut nach der 5. Stunde enthielt 29,4 mgr, das nach der 6. Stunde entnommene nur 18,43 mgr Gesamtstickstoff. Ist der durch Schwefelsäure plus Phosphorwolframsäure nicht fällbare Stickstoff ein Maass für die Grösse der Resorption, so würde das Maximum derselben mit Ablauf der 5. Stunde schon erreicht sein.

Vergleicht man hiermit die Resultate der früheren Untersuchungen, so muss die Hauptmenge des Asparagins in der 4. bis 6. Stunde nach der Eingabe resorbiert werden.

Berechnet man aus der Schwefelsäuremenge 0,867 gr, welche, wie oben erwähnt, den Gesamtschwefel des Harns enthält, durch Multiplication mit 5,6 die auf Eiweiss entfallende Stickstoffmenge, so bleiben 5,99 gr N, welche aus der Zersetzung des Asparagins herstammen müssen; die nach Verfütterung des Asparagins aus der Blase gewonnene Harnmenge (280 ccm, spec. Gewicht 103,5) enthielt nämlich 10,86 gr Stickstoff und 0,867 gr Schwefelsäure.

Das Verhältnis von Stickstoff und Gesamtschwefel ist also um das Doppelte gewachsen, es ist $N : H_2SO_4 = 12{,}52 : 1$. Während der 6 stündigen Versuchszeit sind somit 32,1 gr = 64,2 % von dem eingegebenen Aspara-

gin resorbiert und mit dem Harn als Harnstoff ausgeschieden worden.

Versuche über die Schnelligkeit der Resorption sind bislang am Hunde nicht ausgeführt worden.

Durch Versuche an sich selbst hat Graffenberger festgestellt, dass nach Einnahme von 5 gr Stickstoff in Form von Asparagin (26,8 gr) 79 % desselben überhaupt resorbiert werden und zwar 63,2 % innerhalb der ersten 10 Stunden.

Die Hauptmenge soll in der dritten und vierten Stunde nach der Einnahme zur Resorption kommen. Beim Hunde scheint demnach die Resorption schneller zu erfolgen als beim Menschen: 64,2 % des Asparagins wurden schon innerhalb der ersten 6 Stunden resorbiert.

Das Maximum der Resorption scheint jedoch etwas später als beim Menschen, nämlich in die vierte bis sechste Stunde zu fallen. Trotz der grossen Mengen von Asparagin, die innerhalb 6 Stunden den Organismus passieren, beträgt die Zunahme an durch Schwefelsäure und Phosphorwolframsäure nicht fällbarem Stickstoff in 100 ccm Blut nur 7,8—9,8 mgr, was einem Gehalt von 0,0418—0,0525 gr Asparagin entspricht.

Nach den Ergebnissen der früheren quantitativen Bestimmungen des Asparagins könnte ein solcher Gehalt des Blutes an demselben der Fällung durch Kupferacetat wohl entgehen, müsste jedoch noch deutlich durch die charakteristische Blaufärbung, die der Zusatz dieses Fällungsmittels verursacht, angezeigt werden.

Es trat jedoch in allen Fällen nur eine Färbung der auf Asparagin zu untersuchenden Flüssigkeiten ein, welche mit der auf Zusatz des Kupferacetats zu destilliertem Wasser erhaltenen fast übereinstimmt. Nur in dem ersten Versuche stieg der Stickstoffgehalt beträchtlich; er nahm zu um 126,1 mgr, entsprechend 0,679 gr Asparagin. Da auch in diesem Blute kein Asparagin gefunden wurde und die Zunahme des Stickstoffs aus dem Asparagin selbst nur herkommen konnte, so musste der Stickstoff in Form von Zwischenstufen beim Übergang des Asparagins in den Harnstoff oder in Form von Harnstoff selbst vorhanden sein. Dieser Versuch scheint zu beweisen, dass nach Verfütterung von Asparagin dasselbe im Carotidenblute nicht mehr nachgewiesen werden kann.

Da der Blutstrom auf seinem Wege von der Leber durch das rechte Herz und die Lunge ein Organ, zur Oxydation der Stoffe bestimmt, nicht passiert, das Blut selbst aber, wenn überhaupt, nur minimale Oxydationsfähigkeit besitzt, so muss man annehmen, dass in Bezug auf die im Blute kreisenden Stoffwechselproducte zwischen Lebervenenblut und Carotidenblut keine Unterschiede bestehen, von der Sauerstoffaufnahme abgesehen.

Der Sauerstoff ist eben nur das Oxydationsmittel, als Oxydationsstätte aber muss die Leber angesehen werden, so lange als deren Zellen nicht durch moleculäre, physikalische oder chemische Störungen in ihrer Function behindert sind.

Wird das vitale Element krank, wie bei der acuten gelben Leberatrophie, bei Phosphorvergiftung, bei der interstitiellen Hepatitis chronica, dann ist auch die Oxydation der Stoffe vermindert oder aufgehoben. Während in dem Blute der Carotis resp. Vena hepatica nach Asparaginfütterung kein Asparagin mehr angetroffen wird, ist auf der anderen Seite die Resorption von 64 % festgestellt. Das Asparagin ist also von der Leber, der es durch Vena portarum zugeführt wurde, weiter verändert worden.

Sollte die Leber nach Art der Glycogenaufspeicherung auch die Zufuhr von N-haltigen Stoffen ins Blut durch periodische Retention regulieren, so könnte die Anwesenheit der Stoffe in ganz geringen Mengen, ob zersetzt oder unzersetzt, im Blute der Auffindung entgehen. In dem Falle dürften Fütterungsversuche nur mit äusserst exacten Methoden Aufschluss über die Schicksale des Asparagins zu geben im stande sein.

Bei der Untersuchung des frischen Leberparenchyms aber konnte weder das Asparagin nachgewiesen werden, noch erlaubten die grossen Schwankungen im Stickstoffgehalt der Leber die genaue Feststellung eines Ansteigens desselben infolge Asparaginverfütterung, wie dies beim Blute möglich war.

Das Asparagin muss somit in der Leber sehr schnell der Zersetzung und Oxydation anheimfallen.

Unsere anatomischen, physiologischen und chemischen Kenntnisse über die Leber belehren uns über die Oxydationskraft des Organs, und sollte man glauben, dass

die örtliche Vereinigung von drei für die Oxydation so wichtigen Factoren, wie Zellenreichtum, starke Capillarnetzentwickelung und Wärmesteigerung eine nebensächliche Bedeutung habe?

Die Wärme als Antagonist der chemischen Bindung im Verein mit vermindertem Sauerstoffdruck in den Capillaren verursacht, dass der Sauerstoff, der, wie wir seit Lavoisier und Magnus wissen, als für die Oxydation wichtig bis in die Capillaren gelangt, hier vom Hämoglobin getrennt wird. Zugleich kreisen im Blute die zur Oxydation bestimmten Stoffe, die von der mit elective Thätigkeit ausgestatteten Leberzelle unter der Sauerstoffeinwirkung weiter verändert werden sollen.

Die verschiedensten chemischen Processe sind bereits auf dem von Ludwig inaugurierten und von v. Schroeder mit Erfolg ausgeführten Wege der Durchblutung lebensfrischer Organe experimentell festgestellt worden und so dürfte auch die endgültige Entscheidung über meine Ansicht, dass die Leber die Oxydationsstätte des Asparagins sei, von den Resultaten abhängen, die nur Durchblutungsversuche im Sinne Ludwig's und v. Schroeder's zu bringen im stande sind.

Die Resultate dieser Versuche werden später veröffentlicht werden.

Fassen wir die Resultate der Arbeit zusammen, so hat sich ergeben aus den Vorversuchen:

I. *Asparagin wird selbst durch eine 33,33 Vol.-% conc. Salzsäure oder Schwefelsäure nur bis zu Asparaginsäure und Ammoniak zersetzt.*

II. *Die Enteiweissung des Blutes und der Organe kann durch Essigsäure und Soda mit sich anschliessender Fällung durch Schwefelsäure und Phosphorwolframsäure bewirkt werden.*

III. *Asparagin und Asparaginsäure können nach Enteiweissung aus Blut und Organen sehr gut durch Kupferacetat gefällt werden; eine Umwandlung von Asparagin in Asparaginsäure findet dabei nicht statt.*

IV. Asparagin und Asparaginsäure können aus ihrem Gemisch durch Kupferacetat gefällt, isoliert und bestimmt werden.

V. Asparagin oder Säureamide überhaupt können nach der Schulze'schen Methode in den Organen nicht nachgewiesen werden.

Aus den Fütterungsversuchen ergab sich:

VI. Nach Verfütterung von Asparagin ist in der Leber und in der Milz kein Asparagin mehr nachzuweisen.

VII. Nach Verfütterung von Asparagin zeigt das Carotidenblut keine Spur von Asparagin, doch aber einen bis zur 5. Stunde steigenden Gehalt an durch Schwefelsäure und Phosphorwolframsäure, nicht fällbarem Stickstoff; nach Verlauf der 5. Stunde dagegen ist bei gleichzeitiger Verfütterung von Asparagin und Fleisch ein deutliches Sinken des Stickstoffgehaltes zu constatieren.

VIII. Innerhalb 6 Stunden nach Eingabe von Asparagin werden 64 % desselben mit dem Harn als Harnstoff ausgeschieden.

IX. Das Maximum der Resorption scheint in die 4. bis 6. Stunde nach der Eingabe desselben zu fallen.

Thesen.

I.

Die bisher dargestellten Eisenalbuminate sind nicht resorbierbar.

II.

Die freie Salzsäure des Magensaftes ist von wesentlicher Bedeutung für die Schnelligkeit der Verdauung.

III.

Die Leichenverbrennung ist aus hygienischen Gründen der Bestattung vorzuziehen.

Lebenslauf.

Der Verfasser dieser Arbeit, Julius C. Lewinsky aus New-York, jüdischer Confession, Sohn des Kaufmanns Jacob Lewinsky, ist am 29. Mai 1858 geboren.

Nachdem er auf den Gymnasien zu Gross-Glogau und Warburg seine Vorbildung beendet, ergriff er das Lehrfach.

Er lehrte in Berlin und zuletzt in New-York als Director der „Collegiate School“ daselbst.

Seit dem 1. October 1883 studierte er Medicin und besuchte das College of Physicians and Surgeons, das Medical Department of Columbia College of the City of New-Cork bis zum 1. August 1888. Seit October 1888 ist er bei der medicinischen Facultät der Königl. Friedrich-Wilhelms-Universität zu Berlin immatriculiert und bestand am 19. Juli 1893 das Tentamen medicum und am 25. Juli 1893 das Examen rigorosum.

Während der letzten 10 Semester hörte der Verfasser folgende Herren:

v. Bardeleben, Benda, v. Bergmann, du Bois-Reymond, Dührssen, Ewald, Fasbender, Fritsch, Gad, Gerhardt, Gusserow, Guttmann, Günther, Hartmann (†), Hertwig, v. Hofmann (†), Jolly, Koch, Kossel, Lassar, G. Lewin, L. Lewin, Leyden, Martin, Olshausen, Rubner, Salkowski, Schlange, Schweigger, Senator, Silex, R. Virchow, Waldeyer, Winter.

Allen diesen Herren spricht Verfasser seinen Dank aus.